



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JOSEANE DE ANDRADE SANTANA

DESENVOLVIMENTO DE REVESTIMENTOS HÍBRIDOS
APLICADOS AOS SUBSTRATOS DE Ti-6Al-4V PARA
APLICAÇÕES BIOMÉDICAS

HYBRID COATINGS DEVELOPMENT AND APPLIED TO
SUBSTRATES OF Ti-6Al-4V FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS





UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA

JOSEANE DE ANDRADE SANTANA

DESENVOLVIMENTO DE REVESTIMENTOS HÍBRIDOS
APLICADOS AOS SUBSTRATOS DE Ti-6Al-4V PARA
APLICAÇÕES BIOMÉDICAS

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química, da Universidade Federal de Sergipe, para a obtenção do título de Doutora em Química.

Orientador: Prof. Dr. Victor Hugo Vitorino Sarmiento

Coorientadora: Profa. Dra. Sandra Raquel Kunst



**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA BIBLIOTECA CENTRAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE SERGIPE**

Santana, Joseane de Andrade
S232d Desenvolvimento de revestimentos híbridos aplicados aos substratos de Ti-6Al-4V para aplicações biomédicas / Joseane de Andrade Santana ; orientador Victor Hugo Vitorino Sarmento - São Cristóvão, 2019.
112 f. : il.

Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal de Sergipe, 2019.

1. Química. 2. Implantes artificiais. 3. Alumínio - Corrosão. 4. Materiais biomédicos. 5. Biocompatibilidade. I. Sarmento, Victor Hugo Vitorino orient. II. Título.

CDU 54:615.477.2



FOLHA DE APROVAÇÃO

Membros da Comissão Julgadora da Tese de Doutorado de Joseane de Andrade Santana apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Química da Universidade Federal de Sergipe em 28/02/2019.

Prof. Dr. Victor Hugo Vitorino Sarmento
Departamento de Química do Campus de Itabaiana - UFS

Prof.^a Dr.^a Renata Cristina Kiatkoski Kaminski
Departamento de Química do Campus de Itabaiana - UFS

Prof.^a Dr.^a Valeria Priscila de Barros
Departamento de Química do Campus de Itabaiana - UFS

Prof.^a Dr.^a Cristiane Xavier Resende
Departamento de ciência e Engenharia de Materiais – UFS

Prof.^a Dr.^a Jane Zoppas Ferreira
Universidade Federal do Rio Grande do Sul

RESUMO

A liga Ti-6Al-4V é um dos biomateriais metálicos mais utilizados, pois possui resistência à corrosão, alta resistência estática e a fadiga, módulo de elasticidade relativamente baixo, baixo peso, alta biocompatibilidade e aposição óssea direta. No entanto, a exposição dessa liga em fluido corpóreo por um longo período de tempo possui baixa resistência ao desgaste, e possibilita a liberação de íons Al e V que podem causar reações adversas nos tecidos e distúrbios neurológicos. Na tentativa de superar esses problemas, revestimentos híbridos Siloxano-PMMA foram sintetizados pelo método sol-gel e depositados por imersão na liga Ti-6Al-4V tratada superficialmente. Cloreto de cálcio foi adicionado para facilitar a formação de hidroxiapatita e promover a osteossíntese. Inicialmente estudou-se a formação dos híbridos por meio das técnicas FTIR e TG e observou-se que a adição do sal de cálcio à matriz híbrida favoreceu a formação de cadeias poliméricas mais regulares, influenciou nas reações de hidrólise e condensação. Os ensaios morfológicos, mostraram a formação de revestimentos híbridos homogêneos, de baixa espessura, com aderência ao substrato, hidrofílicos e com algumas microrugosidades a medida que foi acrescida a razão do sal de cálcio. Os ensaios eletroquímicos em fluido corpóreo simulado (SBF) à 37 °C e monitorados por técnicas eletroquímicas indicaram cor à corrosão maior para os revestimentos híbridos em comparação a liga sem revestimento nas primeiras horas de imersão. No entanto, o filme sem adição do sal mostrou-se mais resistivo durante maior tempo de imersão devido a rede de sílica mais compacta. Os ensaios *in vitro* de bioatividade demonstraram que os revestimentos híbridos favorecem a formação da hidroxiapatita em SBF. Enquanto os ensaios de viabilidade e densidade celular usando células do tipo murino MC3T3 E1 da linhagem de células pré-osteoblásticas derivadas da calota craniana de camundongos C57BL/6, demonstraram alta viabilidade celular e efeito não tóxico para todos os sistemas e alta densidade celular para o sistema sem adição do cloreto de cálcio. Por fim, os resultados mostraram que o revestimento híbrido na ausência do cloreto de cálcio melhorou efetivamente a bioatividade, biocompatibilidade e resistência à corrosão dos substratos Ti-6Al-4V.

Palavras-chave: implantes, corrosão, materiais híbridos, biocompatibilidade, bioatividade.

ABSTRACT

The Ti-6Al-4V alloy is one of the most widely used metallic biomaterials due to the corrosion resistance, high static and fatigue strength, relatively low elasticity modulus, low weight, high biocompatibility and direct bone apposition. However, the exposure this alloy to body fluid for a long period of time, has low wear resistance and allows the release of Al and V ions may cause adverse reactions in tissues and neurological disorders. In an attempt to overcome these problems, hybrid Siloxane-PMMA coatings were synthesized by the sol-gel method and deposited by immersion on the surface alloy Ti-6Al-4V treated. Calcium chloride was added to some compositions to facilitate the formation of hydroxyapatite and promote osteosynthesis. At the start, was studied the hybrids formation by means of the FTIR and TG techniques and it was observed that the addition of the calcium salt to the hybrid matrix favored the formation of more regular polymer chains, influenced in hydrolysis and condensation reactions, besides having higher thermal resistance to hybrids. As regards morphological tests, these showed the formation of homogeneous, low thickness, substrate adherent, hydrophilic coatings with some micro-roughness as the molar ratio of calcium salt to the composition was increased. Electrochemical simulated body fluid (SBF) tests at 37 °C and monitored by electrochemical techniques indicated higher corrosion resistance for the hybrid coatings than for the uncoated alloy in the first few hours of immersion, however, the film without addition of salt showed is more resistive during longer immersion time due to the more compact silica network. *In vitro* bioactivity assays demonstrated that hybrid coatings further the formation of hydroxyapatite in SBF. While viability and cell density using murine osteoblastic MC3T3 cells, demonstrated high cell viability and non-toxic effect for all systems and high cell proliferation for the system without addition of calcium chloride. Finally, the results showed that hybrid coating without calcium chloride effectively improved the bioactivity, biocompatibility and corrosion resistance of Ti-6Al-4V substrates.

Keywords: implants, corrosion, hybrid materials, biocompatibility, bioactivity.

Dedido à minha mãe, Givalda Mendonça de Andrade, por todos os ensinamentos e incentivos, os quais foram fundamentais para a minha formação pessoal e profissional.

Recomece

**Quando a vida bater forte e a sua alma sangrar.
Quando esse mundo pesado lhe ferir, lhe esmagar.
É hora do recomeço. Recomece a lutar.**

**Quando tudo for escuro e nada iluminar.
Quando tudo for incerto e você só duvidar.
É hora do recomeço. Recomece a acreditar.**

**Quando a estrada for longa e seu corpo fraquejar.
Quando não houver caminho nem um lugar pra chegar.
É hora do recomeço. Recomece a caminhar.**

**Quando o mal for evidente e o amor se ocultar.
Quando o peito for vazio e o abraço faltar.
É hora do recomeço. Recomece a amar.**

**Quando você cair e ninguém lhe amparar.
Quando a força do que é ruim conseguir lhe derrubar.
É hora do recomeço. Recomece a levantar.**

**E quando a falta de esperança decidir lhe açoitar.
Se tudo que for real for difícil suportar.
É hora do recomeço. Recomece a sonhar.**

**É preciso de um final pra poder recomeçar.
Como é preciso cair pra poder se levantar.
Nem sempre engatar a ré significa voltar.**

**Remarque aquele encontro. Reconquiste um amor.
Reúna quem lhe quer bem. Reconforte um sofredor.
Reanime quem tá triste e reaprenda na dor.**

**Recomece! Se refaça! Relembre o que foi bom.
Reconstrua cada sonho. Redescubra algum dom.
Reaprenda quando errar. Rebole quando dançar.**

**E se um dia lá na frente, a vida der uma ré,
Recupere a sua fé, e recomece novamente.**

(Bráulio Bessa)

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por todas as oportunidades que me foram dadas e pelo desejo constante de construir conhecimento.

Aos meus pais, Josino Pereira (in memoriam) e Givalda Mendonça e a meu irmão Jhônata, por todo amor, incentivo e compreensão.

Aos meus avós/padrinhos e a minha prima Fernanda por todos os momentos alegres e de saudável convivência familiar.

A Igor Marcel, pela compreensão, paciência, carinho, e por todos os momentos alegres vividos nos últimos meses.

A meu orientador, Prof. Dr. Victor Hugo, pela oportunidade dada no início da iniciação científica, por acreditar no meu potencial, pela paciência em inúmeros momentos e por ser presente, aconselhando e mostrando os melhores caminhos.

À minha coorientadora, Prof. Dra. Sandra Kunst, pelo conhecimento compartilhado, auxílio na interpretação dos resultados e também pela amizade e carinho demonstrados.

Aos Doutores, Alexandre Bastos e Mario Ferreira pela receptividade e estrutura científica concedida no Departamento de Engenharia de Materiais e Cerâmica da Universidade de Aveiro.

Aos amigos e colegas que fazem ou fizeram parte do LPMH e GPMAT, Renata, Filipe Augusto, Kelly, Brena, Bárbara, Cássio, Suely, Jaqueline, Francielly, Erilaine, Edielma e demais não citados, por todos os momentos de trabalho e descontração na UFS.

Às amigas de longas datas, Juliana, Dayane, Aline, Karine, Genilma e Nalva pelas conversas incentivadoras e por compreender a minha ausência em muitos momentos importantes.

Aos amigos, Alice, Ylla e Rui por terem compartilhado comigo momentos incríveis e inesquecíveis de conhecimento científico e cultural em Portugal.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Química (PPGQ)

Às professoras, Michelle Cardinale, Anne Michelle, Renata Kaminsk, Valéria Barros, Jane Zoppas e Cristiane Resende pelas contribuições dadas no Exame de Qualificação e na Defesa da Tese.

À Capes, CNPq e FAPITEC pelo auxílio financeiro.

Às universidades, Universidade Federal de Sergipe (UFS), Universidade de Caxias do Sul (UCS), Universidade Feevale e Universidade de Aveiro.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AFM - Microscopia de Força Atômica (AFM)
APS - 3-aminopropiltriétoxisilano
ASTM - American Society for Techniques and Material
BPO – Peróxido de Benzoíla (do inglês Benzoyl Peroxide)
BTSE - Bis-trietoxisilietano
DTG – Análise Termogravimétrica Diferencial
DETA - Dietilenotriamina
EDS – Espectroscopia de Energia Dispersiva
EIE - Espectroscopia de Impedância Eletroquímica (EIE)
FTIR – Espectroscopia de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier
GPTMS - Glicidoxipropiltrimetoxisilano
MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura
MMA – Metacrilato de Metila
MPTS – Metacrilato – propil – trimetoxisilano
MTES – Metiltriétoxisilano
Na₂SO₄ - Sulfato de Sódio
OCP - Potencial de Circuito Aberto (OCP)
PBS – Solução salina tamponada com fosfato
PMMA – Poli (Metacrilato de Metila)
p(MMA-co-MPTS) - Copolímero
PMPTS – Polimetacrilóxi propil trimetoxisilano
PSG – Processo sol-gel
TG – Termogravimetria
SBF – Fluido corpóreo simulado
SVET - Técnica do Eletrodo Vibrante de Varrimento (SVET).

Sumário

CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Apresentação	2
1.2 Biomateriais.....	3
1.3 Classificação dos Biomateriais	4
1.3.1 <i>Materiais bioinertes.....</i>	<i>5</i>
1.3.2 <i>Materiais bioativos.....</i>	<i>5</i>
1.4 Materiais Metálicos	8
1.4.1 <i>A Liga Ti-6Al-4V.....</i>	<i>11</i>
1.4.2 <i>Propriedades Químicas e Resistência à Corrosão da liga Ti-6Al-4V</i>	<i>13</i>
1.5 Materiais Híbridos Orgânicos-Inorgânicos	15
1.6 Processo Sol-Gel.....	19
1.7 Revestimentos Híbridos Aplicados a Ligas Metálicas.....	22
1.8 Motivação e Objetivos	26
CAPÍTULO 2 - MATERIAL E MÉTODOS.....	28
2.1 Procedimento Experimental.....	29
2.2 Precursores	30
2.3 Liga Ti-6Al-4V	31
2.4 Síntese dos Híbridos Orgânicos-Inorgânicos	32
2.4.1 <i>Síntese do Copolímero p(MMA-co-MPTS)</i>	<i>32</i>
2.4.2 <i>Síntese dos Híbridos</i>	<i>33</i>
2.4.3 <i>Preparação dos substratos metálicos e deposição dos filmes</i>	<i>33</i>
2.5 Caracterização Estrutural.....	35
2.6 Caracterização de Superfície	35
2.7 Caracterização Eletroquímica	37
2.8 Caracterização das Propriedades Biológicas.....	39
2.8.1 <i>Testes de bioatividade in vitro</i>	<i>39</i>

2.8.2 Testes <i>in vitro</i> : Cultura celular	39
CAPÍTULO 3 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	41
Influência da Adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ à Matriz Híbrida na Formação dos Híbridos.....	41
3.1 Introdução.....	42
3.2 Influência da Quantidade de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ na Estrutura dos Híbridos	42
3.3 Estudo da Adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ nas Propriedades Térmicas dos Híbridos	46
CAPÍTULO 4 - RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
Influência da Adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ na Formação dos Revestimentos Híbridos.....	51
4.1 Introdução.....	52
4.2 Análise Morfológica da Influência da Adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ na Formação dos Revestimentos Híbridos.....	52
CAPÍTULO 5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66
Estudo da Resistência à Corrosão	66
5.1 Introdução.....	67
5.2 Estudo da Resistência à Corrosão	67
CAPÍTULO 6 - RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	76
Estudo das Propriedades Biológicas	76
6.1 Introdução.....	77
6.2 Estudo da Bioatividade das Superfícies	77
6.3 Estudo da Densidade e Viabilidade Celular nas Superfícies	80
6.4 Estudo da Citotoxicidade das Superfícies.....	84
CAPÍTULO 7	86
7.1 Conclusão.....	87
7.2 Perspectivas do Trabalho.....	88
8. Referências Bibliográficas.....	89

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

1.1 Apresentação

Titânio e suas ligas vem sendo estudadas ao longo dos anos devido a suas aplicabilidades nas áreas automobilística, aeronáutica e biomédica [1,2]. A sua utilização como implante é justificada pela formação de uma camada de óxido estável e o bom poder de aceitação do organismo vivo. Dentre as ligas de Titânio a liga Ti-6Al-4V é a mais utilizada, principalmente para fins ortopédicos e dentários, entretando, alguns fatores restringem o uso destas ligas em aplicações biomédicas [3,4]. Quando em contato com o fluído corporal alguns fenômenos como, corrosão eletroquímica, liberação de íons metálicos como alumínio e vanádio, formação de tecido fibroso no entorno do implante e desgaste com o tempo de uso podem ocasionar ao paciente inflamações e rejeição do implante [5,6].

A fim de superar os problemas citados têm-se desenvolvido diversas alternativas para modificação destas superfícies metálicas, tais como, métodos químicos, mecânicos, deposição de cerâmicas bioativas, bem como o uso revestimentos [2,7,8]. Dentre as alternativas para reparar a falha prematura devido ao desgaste por corrosão, os revestimentos híbridos bioativados tornam-se mais atrativos por melhorar o desempenho da superfície do substrato, facilitando o processo de bioatividade e biocompatibilidade [9,10]. O processo sol-gel, método usado para obter revestimentos, é baseado nas reações de hidrólise e condensação de alcóxidos metálicos e estas reações podem ser afetadas por diversos parâmetros no método de síntese, como concentração dos precursores, solventes, catalisador e temperatura de processamento [11,12]. O processo sol-gel é um método versátil para a produção de novos materiais, e essa versatilidade permite a obtenção de materiais com características inovadoras, como os híbridos orgânicos-inorgânicos [13,14]

Os híbridos orgânicos – inorgânicos, siloxano-poli(metacrilato de metila) SiO₂-PMMA, são uma classe de materiais desenvolvidos pelo processo sol-gel bastante conhecido na obtenção de filmes finos e aplicados nos mais distintos campos da ciência, tendo como principal aplicação na proteção contra a corrosão sendo utilizado direto ou como pré-tratamento [15,16]. Por se tratar de um

biomaterial, a biocompatibilidade e a bioatividade desses revestimentos híbridos se faz necessária, principalmente no processo de reconstrução óssea quando utilizado como cimento ósseo, bem como, quando utilizados como biovidros e a adição de partículas cerâmicas bioativas como o CaCl_2 adicionadas a matriz híbrida potencializa essas propriedades [11,18]. Os estudos apontam que a interação entre as fases orgânica e inorgânica propiciam materiais com melhores aplicações para a reposição óssea se comparado a sistemas com o polímero PMMA puro [11,18]. O estudo dos revestimentos SiO_2 -PMMA para aplicações anticorrosivas em ligas metálicas é bem reconhecido [19,20,21], entretanto, não há relatos na literatura da utilização desses revestimentos dopados com partículas bioativas de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ aplicados a ligas Ti-6Al-4V. Diante disso, esse trabalho busca desenvolver revestimentos híbridos a base dos precursores Metacrilato de Metila (MMA) e Tetraetoxi silano (TEOS) com adição de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ aplicados à liga Ti-6Al-4V via processo sol-gel, utilizando a técnica de deposição *dip-coating*, os quais devem apresentar propriedades biocompatíveis, bioativas e de resistência à corrosão.

Nas seções a seguir deste capítulo é apresentado o referencial bibliográfico abordando os principais conceitos, métodos, precursores, além da evolução e revisão de estudos fundamentais para o desenvolvimento de novos materiais com o intuito de promover a compreensão do presente trabalho.

1.2 Biomateriais

O estudo dos biomateriais é chamado "Ciência dos Biomateriais" e engloba elementos de diversas áreas da ciência, como medicina, biologia, química, engenharia de tecidos e ciências dos materiais [6,22,23]. Os biomateriais emergiram como uma classe de materiais muito importantes para a aplicação na medicina [6]. As pesquisas intensivas na última década indicam que muitos problemas relacionados a saúde podem ser superados com o uso desses materiais. Diante disso, a qualidade de vida tem aumentado significativamente para pacientes que necessitam de cirurgias reconstrutivas [6,23].

Existem diversas definições para o conceito biomaterial, entretanto, a mais aceita pela maioria dos estudiosos da área é que um biomaterial “é qualquer

material, natural ou produzido pelo homem, que compreende toda ou parte de uma estrutura viva ou de um dispositivo biomédico que executa, aumenta ou substitui uma função natural” [22,24,25].

Os biomateriais em uso podem pertencer a diversas classes de materiais, como metais, cerâmicos, polímeros e compósitos, ou suas combinações [9,26]. Os biomateriais devem possuir características peculiares, sendo a mais imprescindível a biocompatibilidade [10,27,28]. O termo material biocompatível refere-se aos materiais que apresentam contato direto com as células, tecidos e fluídos corporais no corpo humano, e são geralmente utilizados para a substituição de tecidos ou como reparo de componentes estruturais dentro do corpo. Deste modo, podem compensar os danos causados pelo envelhecimento, doenças ou acidentes. O desenvolvimento avançado de biomateriais requer uma combinação complexa das ciências dos materiais e biologia [10,28].

A escolha dos materiais mais adequados para a produção de implantes médicos é condicionada por inúmeras propriedades, tais como, biocompatibilidade, bioadesão, biofuncionalidade, resistência à corrosão, entre outras. Para compreender o comportamento de um biomaterial dentro do corpo, uma série de dados é de suma importância, tais como, genotoxicidade, carcinogenicidade, citotoxicidade, irritação e sensibilidade [6,24]. Ao longo dos anos os biomateriais foram classificados de formas diferentes na medicina. Sendo que uma das classificações se baseia na resposta biológica gerada quando os materiais são implantados no corpo humano, a exemplo dos materiais bioinertes ou bioativos [9,26].

1.3 Classificação dos Biomateriais

A reatividade do biomaterial com os tecidos naturais é de fundamental importância. No passado, os biomateriais utilizados pela engenharia do tecido ósseo eram projetados para serem bioinertes [9,26], enquanto nos dias atuais são desenvolvidos para serem bioativos, isto é, devem possuir a capacidade de interagir com as células e moléculas biológicas e possibilitar a regeneração óssea [22,29].

1.3.1 *Materiais bioinertes*

Os materiais bioinertes são utilizados para reduzir ao máximo a reação imunológica e a reação ao corpo estranho [23]. Após a sua implantação, uma cápsula fibrosa envolve o material como resposta ao corpo estranho. Em seguida, a cápsula formada favorece o aparecimento de micromovimentos na interface implante-tecido. Como consequência, a prótese falha e deve ser substituída [6,24].

A fim de superar tais problemas, duas alternativas foram desenvolvidas: a fixação biológica e a fixação bioativa [9,26]. Na fixação biológica são desenvolvidos materiais com superfícies ásperas e poros maiores que 100 μm que permitem o crescimento de tecido e a angiogênese (formação de vasos sanguíneos a partir de vasos preexistentes). Durante a fixação bioativa, é estabelecida a aproximação íntima entre o biomaterial e o osso, que tem como consequência uma ligação mecanicamente forte [22,26].

Em aplicações experimentais e clínicas anteriores, os biomateriais bioinertes eram considerados superiores aos bioativos porque geram uma resposta tecidual mínima. No entanto, a capacidade de sobrevivência de implantes bioinertes diminui em períodos longos (> 10 anos), de modo que o desenvolvimento de biomateriais bioativos tornou-se mais atraente [22,26].

1.3.2 *Materiais bioativos*

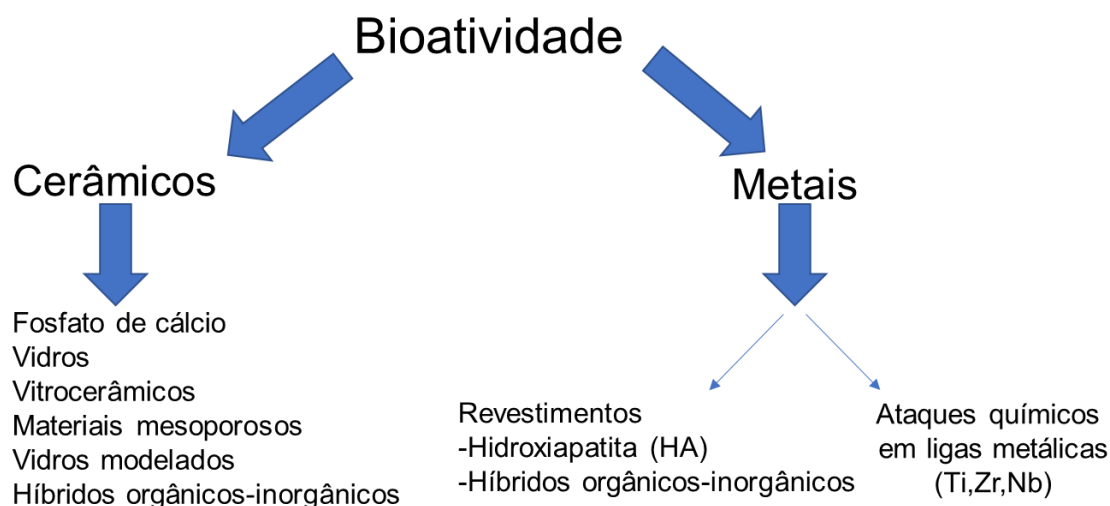
O termo bioatividade refere-se a todas as interações e efeitos que os materiais exercem sobre as células, ativando respostas ou proporcionando comportamentos celulares específicos [24,28,30]. Os materiais bioativos são criados de uma maneira que provocam uma resposta específica e evitam a formação de camadas fibrosas. Possuem interação com o ambiente biológico aumentando desta maneira a resposta biológica, bem como a ligação entre o tecido ósseo e a superfície do implante, possibilitando um ambiente consistente com crescimento ósseo. Esta interação permite o desenvolvimento de uma interface mineralizadora, que favorece a formação da ligação química entre o tecido vivo e o biomaterial [24]. A mineralização e ligação entre o tecido ósseo e

o implante são uma das principais características para aumentar a bioatividade durante o processo de reparo. Além disso, o biomaterial bioativo a ser implantado para ser considerado ótimo deve possuir propriedades mecânicas semelhantes ao local normal do osso hospedeiro [31,32].

O primeiro material bioativo desenvolvido foi um vidro com composição em massa de 45,0% SiO_2 , 24,5% CaO , 24,5% Na_2O and 6,0% P_2O_5 , e foi chamado de Bioglass® 45S5. Entre os anos 70 e 80 a bioatividade foi descrita para outros materiais cerâmicos, incluindo novos vidros, hidroxiapatita porosa e densa, bem como alguns vitro cerâmicos [23]. Em anos seguintes, após o desenvolvimento nas pesquisas, houve a obtenção de materiais com resposta bioativa mais rápida e com melhores propriedades mecânicas [31]. Foram produzidos vidros bioativados com diferentes composições [24], combinados a materiais de naturezas diferentes e também sintetizados por novas rotas, como o processo sol-gel [32]. Além destes citados, novas famílias de materiais bioativos estão sendo investigados, incluindo híbridos orgânicos-inorgânicos [7], materiais mesoporosos (SiO_2) [33], ligas metálicas revestidas com materiais cerâmicos bioativos [34], por deposição química, materiais compósitos, comumente relacionado a uma cerâmica bioativa e um polímero biocompatível [35].

Na Figura 1 são apresentados alguns materiais que exibem naturalmente o comportamento bioativo, e outros que são bioinertes, mas que podem tornar-se bioativos pela inserção de revestimentos ou quando são submetidos a ataques químicos.

Figura 1- Descrição de materiais que exibem bioatividade de origem natural (alguns materiais cerâmicos) e que podem tornar-se bioativos pela ativação das superfícies (alguns metais).



Fonte: Adaptado de Salinas (2013)

O comportamento bioativo de alguns metais vem do componente cerâmico presente nas suas superfícies. De fato, a ataque químico demonstrou converter um metal inerte em bioativo, bem como a deposição de revestimentos híbridos e de hidroxiapatita propiciaram bioatividade as superfícies biocompatíveis de titânio [24,36].

Os materiais bioativos são osteocondutores, pois fornecem as superfícies condições adequadas para suportar a adesão e proliferação de osteoblastos. Entre os materiais bioativos, também existem os materiais osteoindutores que possibilitam o crescimento ósseo, esses materiais permitem a aposição de novo tecido ósseo, a partir de um osso pré-existente. Enquanto a osteocondução refere-se a uma resposta extracelular, a osteoindução é uma resposta intracelular induzida pela liberação de grandes quantidades de íons de Si (IV) e Ca (II) que estimulam a resposta de genes, a fim de produzir a formação óssea [6].

Para aplicações em ortopedia e ortodontia os biomateriais devem possuir propriedades que cumpram alguns requisitos básicos, tais como [5,6,22,37]:

- a) Biocompatibilidade: propriedade importante referente a afinidade da célula de um hospedeiro pela superfície do implante;
- b) Não toxicidade: é imprescindível que o material não apresente efeitos tóxicos devido a liberação de íons ou outros efeitos nocivos que possam causar câncer, deformidades, alergias, necroses, processos de calcificação e inflamações;
- c) Resistência à corrosão: esta propriedade esta diretamente relacionada a biocompatibilidade e a toxicidade e é determinante para a vida do implante. Para implantes permanentes, deve ser muito alta;
- d) Durabilidade: alta resistência a fadiga, importante na prevenção de falhas e fraturas;
- e) Resistência e ductilidade: devido ao espaço limitado, os implantes médicos devem possuir baixas dimensões e simultaneamente apresentar alta resistência e ductilidade;
- f) Baixo módulo de elasticidade: o módulo de elasticidade deve ser de 5-10 vezes superior ao apresentado pelo osso humano. Isso normalmente acarreta em uma blindagem de estresse ou mais carga no implante do que no osso, causando a morte das células ósseas ao longo do tempo

Os metais possuem uma vantagem importante para as aplicações em ortopedia e ortodontia, pois são materiais com biocompatibilidade aceitável, possuem força e resistência ao desgaste e à corrosão superior as apresentadas por materiais poliméricos ou cerâmicos [5,37].

1.4 Materiais Metálicos

A evolução da civilização humana inevitavelmente tem causado o desenvolvimento de biomateriais envolvendo diferentes materiais, com o simples objetivo de ampliar e melhorar a qualidade de vida humana [5,38]. Há mais de 1000 anos, o ouro e o ferro foram utilizados em aplicações odontológicas,

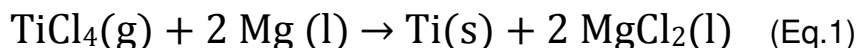
enquanto a prata foi utilizada de diversas maneiras como agente antimicrobiano na prevenção de infecções. No entanto, os avanços mais significativos no campo dos biomateriais ocorreram no século XX. Desde o início dos anos 1900, placas de metal têm sido utilizadas para estabilizar fraturas de ossos longos com o objetivo de cura de forma mais rápida e funcional [6,25].

Devido a substituições de articulações e o uso de diferentes dispositivos cardiovasculares, a qualidade de vida de milhões de pessoas foi melhorada. Os materiais metálicos têm sido indispensáveis para aplicações de suporte de carga em comparação aos materiais cerâmicos e poliméricos [5,22]. Propriedades como, alta resistência à tração, resistência ao escoamento, resistência à fadiga, resistência à deformação e à corrosão, torna esta classe de materiais atrativa. Os biomateriais metálicos são utilizados para a fabricação de dispositivos de implantes temporários (placas ósseas, parafusos e pinos), implantes permanentes (substituição total das articulações e do joelho), dispositivos cardiovasculares, instrumentos cirúrgicos, entre outras [39,40].

No entanto, para exercer seu papel com funcionalidade na medicina, os metais carecem de durabilidade química e biocompatibilidade. Independentemente do grande número de metais e ligas metálicas disponíveis e da capacidade de processamento, apenas alguns metais são biocompatíveis e capazes de aplicação a longo prazo como material de implante [6,25]. Os biomateriais metálicos podem ser classificados com base no principal elemento que compõe a liga da seguinte forma: aços inoxidáveis [41], ligas à base de titânio [14], ligas à base de cobalto [2] e ligas de magnésio [42] e o seu uso como implantes metálicos requerem ligas com elementos que são mais aceitáveis em termos de toxicidade, e elementos altamente resistentes à corrosão, como o titânio [43].

O titânio foi descoberto em 1791, pelo mineralogista e químico britânico William Gregor. Quatro anos depois, Martin Klaproth, um químico de Berlim, isolou de forma independente o óxido de titânio [14,41]. Passados mais de 100 anos (1910) o metal foi isolado por Matthew Albert Hunter, do Rensselaer Polytechnic Institute, em Troy, N.Y., ao aquecer o tetracloreto de titânio ($TiCl_4$) com sódio em um reator de aço, e foi nomeado a partir da inspiração originária da história das crianças mitológicas gregas de Uranos e Gaia, os Titãs. Passados

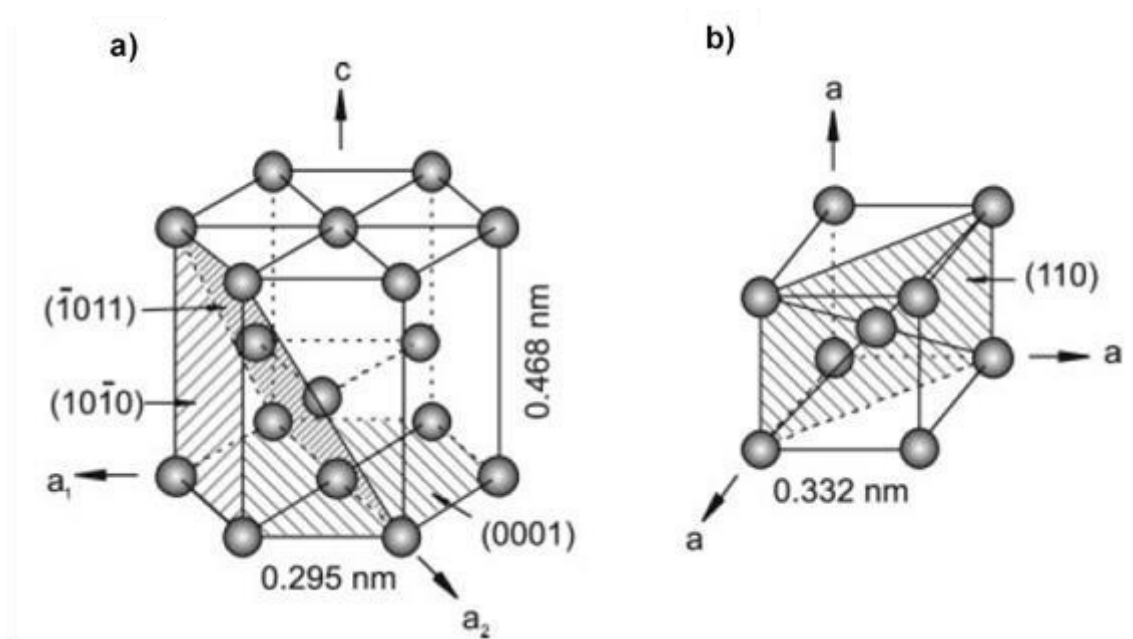
mais de 100 anos para isolar o metal [14,41], em 1932 foram produzidas quantidades significativas de titânio, combinando TiCl_4 com cálcio e no início da Segunda Guerra Mundial, quando fugiu para os Estados Unidos, o químico demonstrou que o titânio poderia ser extraído comercialmente, reduzindo TiCl_4 ao alterar o agente redutor de cálcio para magnésio [14,41], reação esta apresentada na Equação 1.



Ainda nos dias atuais, este é o método mais utilizado e é conhecido como o “processo Kroll”.

O titânio é um elemento de baixa densidade (aproximadamente 60% da densidade do ferro e quase metade da densidade do cobalto) e esta pode ser reduzida consideravelmente por elementos de ligas e processamento de deformação [8,[1]43]. O titânio puro sofre uma transformação alotrópica em aproximadamente 885 °C, mudando de uma estrutura cristalina hexagonal compacta (HC), denominada fase α , para uma estrutura cristalina cúbica de corpo centrado (CCC), denominada de fase β [8,43]. As representações das duas células unitárias das estruturas cristalinas do titânio podem ser vistas na Figura 2. A existência de duas estruturas cristalinas diferentes é a base para grandes variedades de propriedades das ligas de titânio.

Figura 2 - Estruturas cristalinas do titânio: a) hexagonal compacta (fase α) e (b) cúbica de corpo centrado (fase β).



Fonte: Leyens, (2003)

As ligas de titânio são categorizadas em ligas do tipo α , ligas β e ligas $\alpha + \beta$. Os elementos que compõem as ligas de titânio são classificados como neutros e α e β estabilizadores, estes são responsáveis por aumentar ou diminuir a temperatura de transição [1],8,43]. Dentre as ligas de Titânio, a liga (α e β) Ti-6Al-4V (contendo 6% de alumínio e 4% de vanádio) é a mais utilizada, refere-se a aproximadamente 45% da produção total de titânio [8,39,43]

1.4.1 A Liga Ti-6Al-4V

As ligas Ti-6Al-4V, foram desenvolvidas no final da década de 1940 nos Estados Unidos. Após a Segunda Guerra Mundial, as ligas à base de titânio foram consideradas materiais-chave para motores de aeronaves. Atualmente, o setor aeroespacial ainda é o principal consumidor de titânio e suas ligas, mas outros mercados como arquitetura, processamento químico, medicina, geração de energia, marítimo, esportes e lazer, e transporte estão ganhando maior aceitação [2,5,42]. Estas ligas são adequadas para implantes de suporte de

carga devido às suas propriedades mecânicas (resistência à tração e resistência à fadiga) [5,43].

A influência dos elementos alumínio e vanádio sobre as propriedades mecânicas da liga Ti-6Al-4V tem sido muito estudada devido ao grande interesse prático e teórico [43,44,45]. A variação na concentração destes elementos podem aprimorar as propriedades de resistência mecânica da liga Ti-6Al-4V [45].

O alumínio é um dos principais componentes utilizados em ligas de titânio comerciais [43]. A presença do alumínio na liga Ti-6Al-4V, possui a função de aumentar a resistência mecânica, reduzir a capacidade de deformação e o peso específico do material. Uma pequeno acréscimo na concentração de alumínio nesta liga, ocasiona uma significativa diminuição no alongamento e ductilidade da liga [45]. Além disso, este elemento é um dos mais importantes α estabilizadores e possui uma relativa capacidade de aumentar a temperatura de transição da fase α para a fase β , tornando a fase α mais estável. A temperatura de transição entre a fase α e β aumenta de 1155K para 1350 K, com um acréscimo do teor de alumínio entre 0 a 10% em massa [44].

O aumento da concentração do elemento vanádio na composição da liga Ti-6Al-4V proporciona uma melhora na resistência à tração e na tensão de ruptura do material, enquanto que, as propriedades plásticas de alongamento e redução de área diminuem. Entretanto, a influência do vanádio na resistência à tração é bem menos pronunciada do que a do alumínio [45]. Diante dessas características, inúmeros estudos demonstram o excelente desempenho mecânico desta liga quando comparada ao titânio puro e as outras ligas experimentais [36,46]. Por esse motivo, a liga Ti-6Al-4V é empregada em aplicações que requeiram boa resistência à fratura e fadiga, entre as quais destacam-se a indústria automobilística e aeronáutica, bem como, as aplicações biomédicas [1,2,42].

Suas aplicações biomédicas incluem implantes dentários e peças para cirurgia ortodôntica; peças de reposição para quadril, joelho, ombro, coluna, articulações de cotovelo e punho, assim como, dispositivos de fixação óssea, como pregos, parafusos e porcas, peças de alojamento para marca-passos e válvulas cardíacas artificiais e instrumentos cirúrgicos [5,6,37,47]. Na Figura 3

são apresentadas imagens de alguns desses dispositivos produzidos para aplicação em ortopedia.

Figura 3– Dispositivos e implantes biomédicos produzidos com ligas de titânio.



Fonte: Zivic, (2018).

Além das boas propriedades mecânicas apresentadas, a liga Ti-6Al-4V também possui estabilidade química (resistência à corrosão) e biocompatibilidade sob condições *in vivo* [5,43].

1.4.2 Propriedades Químicas e Resistência à Corrosão da liga Ti-6Al-4V

A biocompatibilidade da liga Ti-6Al-4V é excelente especialmente quando esta é posta em contato direto com tecidos ou ossos. É um biomaterial com alta energia superficial, e após o implante proporciona uma reação corporal favorável que leva à aposição direta de minerais na interface osso-implante. Esta biocompatibilidade é principalmente atribuída pela pronunciada afinidade entre titânio presente na liga e o oxigênio. Resultando na formação de uma fina camada de óxido de titânio, sendo esta uma das propriedades responsáveis pela boa resposta biológica dos implantes [43].

O óxido passivo formado sobre a liga é composto predominantemente por TiO_2 , o qual é termodinamicamente estável e aderente, o que contribui para elevada resistência à corrosão [48]. No entanto, Metikos-Hukovi e colaboradores, demonstraram que o elemento vanádio presente na liga, pode difundir-se para a superfície e oxidar-se formando pequenas quantidades dos óxidos V_2O_5 , VO_2 e V_2O_3 . Esses óxidos deterioram a passividade de liga Ti-6Al-4V, uma vez que não possuem as mesmas características protetoras apresentadas pelo TiO_2 . Além dos óxidos de vanádio formados sobre a superfície, óxidos a base de alumínio, como o Al_2O_3 , também podem desestabilizar a camada passiva formada sobre a liga [47,48].

Diante desses fatores apresentados, a camada de óxido formada sobre a superfície Ti-6Al-4V dissolve-se mais rapidamente, apresentando, desta forma, uma menor resistência à corrosão. Isso possibilita a liberação de íons alumínio e vanádio no corpo, os quais se acumulam nos tecidos circundantes [47,48]. E de acordo com pesquisas clínicas foi comprovado que certa quantidade desses íons metálicos (Al e V) liberados pela liga implantada pode ocasionar problemas como metalose e necrose nos tecidos [5], descamação da mucosa do trato respiratório, prejudicar a produção sanguínea [6], além de contribuir para o desenvolvimento de doença de Alzheimer e outras neuropatias e osteomalácia [49]. Estes efeitos citotóxicos causados no corpo pela presença de íons alumínio e vanádio, provocam reações adversas em tecidos e desordens neurológicas. Essa problemática é agravada pela diminuição da resistência à corrosão da liga, quando exposta por muito tempo aos fluídos corpóreo [50,51,52].

Nesse contexto, embora a liga Ti-6Al-4V seja utilizada para aplicações biomédicas pela sua elevada resistência à corrosão; quando implantado, esse biomaterial poderá sofrer uma lenta remoção de íons da superfície, pelas variações locais e temporárias de microestrutura e do meio ambiente. Desta forma, deformações por esforços de fadiga, desgaste e a abrasão dos implantes podem levar a ruptura ou a dissolução da camada de óxido passivo, responsável pela resistência à corrosão [50].

Deste modo, cientistas e engenheiros buscam melhorar as propriedades de superfície de biomateriais metálicos, a fim de reduzir o número de falhas de implantes devido à fraca adesão celular, corrosão e resistência ao desgaste

[8,43]. Assim, a modificação da superfície pode ser uma tecnologia fundamental para melhorar o desempenho *in vivo* dos biomateriais. Técnicas adequadas de modificação de superfície não só retêm os atributos em massa de materiais biomédicos, como também podem melhorar as propriedades de superfície específicas exigidas por diferentes aplicações clínicas [50].

A principal tarefa dos pesquisadores é adaptar a superfície do implante de modo a evitar os efeitos negativos dos biomateriais no tecido circundante, bem como aumentar a interação entre o tecido do corpo e o material implantado. De modo que nenhum dos biomateriais metálicos é bioativo por si só, métodos são desenvolvidos para torná-los bioativos [2,7,48,52]: mecânicos, químicos, eletroquímicos, tratamentos térmicos e revestimentos. Dentre as possibilidades de modificação das superfícies metálicas, os revestimentos híbridos orgânicos-inorgânicos são uma alternativa atrativa para aumentar a biocompatibilidade [2], criar bioatividade [49] entre a liga de Ti-6Al-4V e o osso e possibilitar a melhoria das propriedades de resistência à corrosão [9], inibindo, deste modo, o desprendimento dos íons metálicos (V e Al) da liga.

1.5 Materiais Híbridos Orgânicos-Inorgânicos

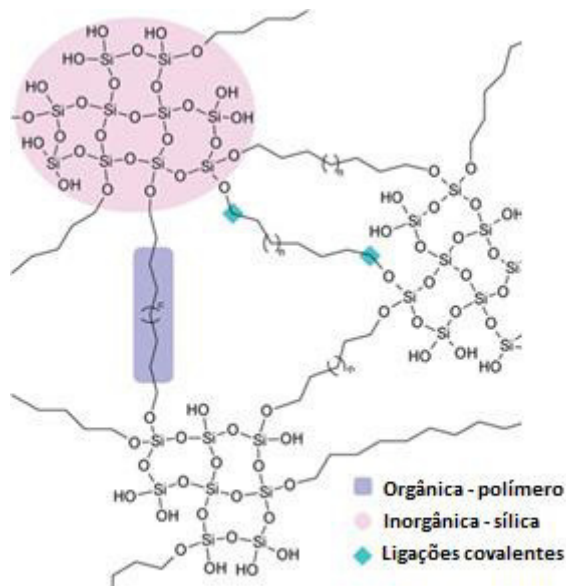
Os híbridos orgânicos-inorgânicos (O-I) são materiais criados a partir de polímeros e compostos inorgânicos *in situ*, são exemplos típicos de nanocompósitos promissores, e é crescente o estudo nessa área ao longo dos anos, devido a sua vasta gama de aplicações [7,17,53,54]. São materiais bifásicos, em que há interpenetração das fases, orgânica e inorgânica em escala nanométrica e uma definição mais detalhada os distingue quanto a natureza da interface orgânica-inorgânica em duas classes [32,53,55]:

Híbridos de Classe I são aqueles em que os componentes orgânicos e inorgânicos interagem por meio de interações físicas, tais como ligações de hidrogênio, força de van der Waals ou ligações iônicas.

Híbridos de Classe II são constituídos de estruturas nas quais os componentes orgânicos e inorgânicos são formados por ligações covalentes ou iônico-covalentes. Na Figura 4 é apresentada uma representação dos híbridos

de classe II, a qual ilustra de forma objetiva as ligações entre as fases de naturezas distintas.

Figura 4 - Esquema de um material híbrido de Classe II composto de sílica/polímero.



Fonte: Valliant, (2011).

A principal vantagem para a utilização dos híbridos orgânicos-inorgânicos é a capacidade de combinar favoravelmente de inúmeras maneiras, propriedades orgânicas e inorgânicas em um único material (Tabela 1). A incorporação de partículas inorgânicas com específicas propriedades, ópticas, elétricas, magnéticas e bioativas em matrizes poliméricas são exemplos desta combinação.

Tabela 1 – Comparação das propriedades gerais de típicos materiais orgânicos-inorgânicos

Propriedades	Orgânicos (polímeros)	Inorgânicos (SiO ₂)
Natureza das ligações	covalente, Van der Waals	inônica ou iônica-covalente (metal-oxigênio)
Transição vítrea (T_g)	baixa (-120 °C à 200 °C)	alta (>>200 °C)
Estabilidade Térmica	baixa (<350 °C à 450 °C)	alta (>>100 °C)
Densidade	0,9-1,2	2,0-4,0
Índice de refração	1,2-1,6	1,15-2,7
Propriedades mecânicas	elasticidade plasticidade emborrachar (dependendo da T _g)	dureza força fragilidade
Hidrofobicidade	hidrofílico	hidrofílico
Permeabilidade	hidrofóbico ± permeável aos gases	baixa permeabilidade aos gases
Processabilidade	alta (moldagem, fundição, formação de filme, controle da viscosidade)	baixa para pós alta para revestimentos sol-gel

Fonte: Kickelbick, (2007)

Uma família de híbridos particularmente interessante são os híbridos Siloxano-poli(metacrilato de metila) (PMMA)/SiO₂. Nos últimos anos estão sendo explorados devido a sua infinidade de propriedades e ao alcance de suas aplicações. No campo de estudo, esses híbridos são desenvolvidos para atuar como revestimentos anticorrosivos [20,21] e bioativos [17], biovidros [11], sensores [34] e dispositivos ópticos [56].

O poli (metacrilato de metila) (PMMA) é uma resina sintética transparente cuja taxa de transmissão de luz é de cerca de 92%, criado pela polimerização do metacrilato de metila MMA (C₅H₈O₂). Devido a sua boa processabilidade, facilidade de manuseio e biocompatibilidade, o PMMA é considerado atrativo para uma variedade de aplicações biomédicas [11,17]. A atuação do PMMA como cimento ósseo no processo de fixação de implantes ocorre há mais de 50 anos, embora estejam entre os melhores biomateriais, o afrouxamento asséptico de

próteses cimentadas é uma complicação permanente, principalmente após a substituição total do quadril. Pesquisadores acreditam que algumas reações biológicas que ocorrem neste processo podem estar associadas ao cimento ósseo de PMMA. Como consequência, materiais inorgânicos (bioativos), tal como, hidroxiapatita, foram adicionados a matriz polimérica (PMMA) e os resultados sugeriram aumento nas ligações físico-químicas existentes entre o PMMA dopado com materiais bioativos e o osso circundante [11,30,57].

Do mesmo modo, a fim de promover a osteointegração, foi investigado o potencial de bioatividade do cimento ósseo de PMMA modificado com o alcoxissilano 3-metacriloxipropiltrimetoxissilano (MPTS) e o sal CaCl_2 , e os resultados indicaram que o aumento concentração de CaCl_2 e MPTS no cimento ósseo modificado (híbrido) acarretou na redução da resistência à compressão, alta osteocondução e induziu a mineralização da hidroxiapatita. Os autores acreditam que a formação de apatita foi induzida pela presença de grupos de silanóis (Si-OH), bem como a dispersão do íon cálcio (Ca^{2+}) na matriz híbrida [30].

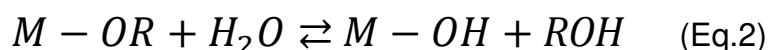
Outra classe de biomaterial em que o PMMA tornou-se atuante, é como biovidro. Ravarian e colaboradores, desenvolveram e compararam três sistemas distintos, o PMMA puro, a mistura física entre o PMMA e o Tetraetoxissilano (TEOS) (biovidro puro) e o biovidro desenvolvido via método sol-gel a partir do PMMA, TEOS, MPTS e $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ [11]. Os resultados demonstraram que os biovidros híbridos obtiveram propriedades físico-químicas superiores comparativamente aos sistemas (PMMA e biovidro) puro, as quais foram influenciadas pelo alto grau de homogeneidade apresentadas pelos monolitos híbridos. Os ensaios biológicos mostraram que as células primárias de osteoblastos foram ancoradas e a migração celular foi observada na superfície do híbrido de forma superior aos resultados apresentados para as demais superfícies. Desta maneira, os ensaios indicaram que a interação em nanoescala entre o biovidro e o PMMA modificaram as propriedades do biovidro de modo a ampliar suas aplicações para a reposição óssea [11].

Ao considerar os resultados consolidados na literatura quanto aos sistemas híbridos Siloxano-PMMA e a funcionalidade destes, ao inserir aditivos bioativos em suas matrizes comparativamente a sistemas poliméricos puros, a obtenção de revestimentos híbridos bioativos aplicados a substratos metálicos é uma

alternativa interessante para produzir filmes que apresentem resistência à corrosão e osseointegração quando implantados no corpo humano. Dentre as rotas de sínteses utilizadas para desenvolver estes revestimentos, o processo sol-gel têm se destacado ao longo dos anos [7,21].

1.6 Processo Sol-Gel

O processo sol-gel (PSG) é um método de síntese versátil para a produção de materiais híbridos devido as suas condições brandas de sínteses. A química do PSG convencional fundamenta-se nas reações de hidrólise e condensação de alcóxidos $M(OR)_n$, em que $M = Si, Ti, Zr, Al$, e $R = C_nH_{2n+1}$. Na primeira reação, chamada de hidrólise (Eq.2), os grupos alcóxi (-OR) sofrem ataque nucleofílico do átomo de oxigênio da molécula de água, formando assim um hidróxido metálico e liberando uma molécula de álcool [58,59].



A medida que as ligações M-OH são formadas, iniciam-se as reações de condensação que podem ocorrer por dois mecanismos. No primeiro, a união de duas espécies hidroxiladas por meio dos átomos de oxigênio formam a estrutura de óxido do metal presente no alcóxido (M-O-M) sob a liberação de água (oxolação) (Eq.3), enquanto no segundo mecanismo, a reação acontece entre uma espécie hidroxilada e o alcóxido metálico formando as ligações M-O-M sob a liberação de uma molécula de álcool (alcoxolação) [58,59] (Eq.4).



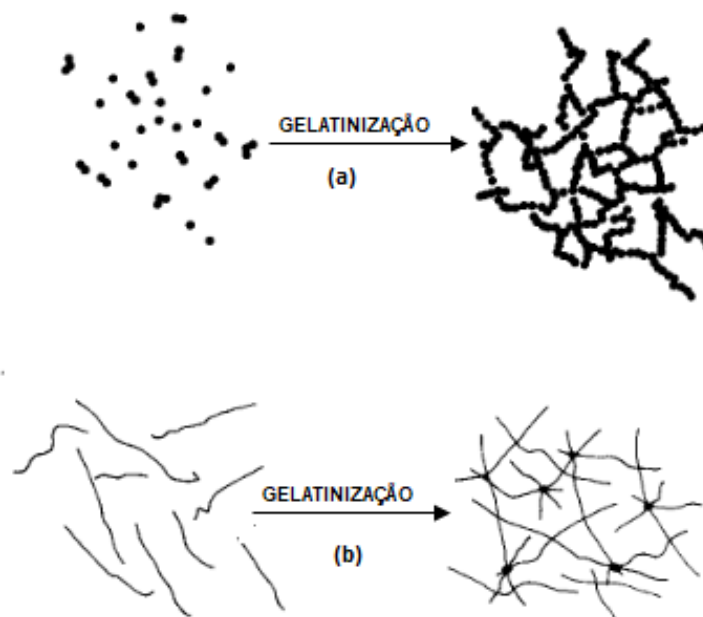
A natureza do catalisador escolhido, ácido ou básico, permite controlar a cinética de reação e a estrutura de espécies condensadas. Se a reação de

hidrólise acontecer em meio ácido, ocorre uma reação eletrofílica, e a velocidade de condensação será maior que a de hidrólise, levando a formação de cadeias alongadas e menos ramificadas no início do processo, entretanto, se a hidrólise for catalisada por base, ocorre uma reação de substituição nucleofílica, e a velocidade de hidrólise será maior que a de condensação, levando a formação de cadeias mais ramificadas no início do processo [60].

Deste modo, no PSG variáveis como catalisador, concentração de reagentes, temperatura de reação, homogeneização do sistema e pH da solução são determinantes para as reações de hidrólise e condensação e podem interferir de forma significativa nas propriedades finais dos materiais produzidos [20,60].

As etapas iniciais das reações de hidrólise e condensação levam a formação da fase sol, e após o processo de gelatinização tem-se a fase *gel*. O termo *sol* é empregado para definir uma dispersão de partículas coloidais (dimensão entre 1 e 100 nm) em um fluido, enquanto o termo *gel* refere-se a um sistema formado pela estrutura rígida de partículas coloidais (gel coloidal) ou de cadeias poliméricas (gel polimérico) que imobiliza a fase líquida nos seus interstícios. Os géis coloidais resultam da agregação linear de partículas primárias, enquanto os géis poliméricos são geralmente preparados a partir de soluções onde se promovem reações de polimerização [58]. O processo de gelatinização para sistemas coloidais e poliméricos é representado na Figura 5.

Figura 5 - Representação estrutural da formação de um gel coloidal (a) e de um gel polimérico (b) pelo método Sol-Gel.



Fonte: Hiratsuka, (1995).

Além das funcionalidades anteriormente mencionadas, o PSG apresenta outras características interessantes, tais como:

- i) as reações de gelatinização são processadas a baixas temperaturas, o que permite inserir à matriz, biomoléculas como enzimas, proteínas e anticorpos, de difícil incorporação por outros métodos em que os processos ocorrem em temperaturas mais elevadas;
- ii) possibilidade de obter materiais sob diferentes configurações como fibras, corpos cerâmicos, monolitos, membranas, pós e revestimentos.

Diante disto, o desenvolvimento de revestimentos híbridos orgânicos-inorgânicos via PSG apresenta como principal vantagem à capacidade de controlar quimicamente as etapas de síntese, e assim obter filmes com baixa espessura, homogêneos, aderentes e de elevada pureza, com características e propriedades pré-planejadas [12,31,61].

1.7 Revestimentos Híbridos Aplicados a Ligas Metálicas

Uma das formas de modificação das superfícies de ligas metálicas é a aplicação de um revestimento. Os revestimentos híbridos são estudados ao longo dos anos e aplicados em ligas metálicas para fins alimentícios, aeronáuticos e biomédicos [39,47]. A modificação superficial de ligas metálicas utilizadas em implantes cirúrgicos por revestimentos híbridos é uma alternativa para gerar uma superfície que, além de protetora, possibilite criar uma interface bioativa que permite a ligação química entre a superfície do metal e o osso existente [2,27,47]. Diversos processos podem ser utilizados para a aplicação destes revestimentos, tais como métodos físicos, pulverização a plasma, deposição assistida por feixe de íons, eletropolimento ou eletrodeposição, e métodos químicos, como revestimentos sol-gel, provenientes da anodização química ou nitretação [62].

Os filmes híbridos a base de silano são considerados ecologicamente corretos, melhoram a adesão e proporcionam resistência à corrosão da superfície metálica ao qual é depositado [51,63,64]. Combinam grupos funcionais orgânicos e inorgânicos a base de silício, cuja a fórmula geral é $R'(CH_2)_nSi(OR)_3$, em que R' é um grupo organofuncional e R é um grupo alcóxi hidrolisável. Quando em contato com a água, os silanos são hidrolisáveis e formam grupos silanóis ($Si-OH$) que favorecem as ligações com a superfície do metal hidratado ($metal-OH$) via formação de ligações $Si-O-metal$ [65]. Os grupos silanóis sofrem auto reticulação por meio de ligações siloxano ($Si-O-Si$), resultando em uma camada de proteção quimicamente ligada ao substrato metálico [65].

O comportamento eletroquímico de filmes silanos a base de tetraetoxisilano (TEOS) e metiltrietoxisilano (MTES) aplicados aos substratos de Co-Cr-Mo, os quais são utilizados em implantes ortopédicos foi investigado em solução de fluido corporal simulado (SBF) por Ceré e equipe [66]. Os resultados indicaram a formação de uma camada contínua e sem defeitos para os filmes produzidos, esta barreira hidrofóbica dificulta o acesso do eletrólito no revestimento propiciando potenciais propriedades eletroquímicas comparativamente ao substrato sem revestimento [66].

De forma análoga, Zomorodian e colaboradores, propuseram a aplicação de filmes híbridos produzidos a partir da síntese entre o glicidoxipropiltrimetoxisilano (GPTMS), MTES e Dietilenotriamina (DETA) sobre a liga de magnésio AZ31 a fim de diminuir a taxa de corrosão e possibilitar a sua aplicação de modo seguro como implantes metálicos biorreabsorvíveis [67]. Neste estudo as superfícies metálicas foram submetidas a pré-tratamentos diferenciados (ataque em ácido fluorídrico ou polimento eletroquímico em solução de NaOH) e os resultados eletroquímicos de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) em solução salina balanceada de Hanks possibilitaram um aumento na resistência à corrosão do substrato pré-tratado e revestido com filme híbrido quando comparado a liga revestida sem pré-tratamento, com destaque para as amostras tratadas com ácido fluorídrico, as quais apresentaram maiores valores de impedância retardando deste modo a degradação do revestimento. Além disso, destacaram a influência da composição da camada inorgânica formada durante a etapa de pré tratamento no desempenho corrosivo, uma vez que o polimento com ácido fluorídrico proporcionou a formação de uma camada de óxidos de $Mg(OH)F_{2-x}$ que melhorou significativamente a ancoragem do filme silano devido a estabilidade da ligação formada [67].

Além de apresentar propriedades como, resistência à corrosão e mecânica, boa homogeneidade e aderência, os revestimentos híbridos também favorecem a mineralização de hidroxiapatita quando expostos em SBF [10,68]. Revestimentos híbridos Siloxano-PMMA desenvolvidos pelo método sol-gel e aplicados a ligas 316 L foram imersos em solução SBF por 5, 10, 15, 20 e 25 dias e os resultados indicaram que após 5 dias de imersão em solução de fluido corporal a superfície revestida estava parcialmente recoberta de esferulites de hidroxiapatita com aproximadamente $2,5\ \mu m$ em média e que em apenas 15 dias de imersão a superfície estava completamente recoberta [1]. Os ensaios estruturais demonstraram que houve o aumento do fosfato de cálcio na superfície do revestimento ao longo dos dias de imersão e indicaram que este feito está relacionado a presença de grupos OH presentes na superfície, os quais possuem carga negativa e são responsáveis por atrair íons de cálcio, que por sua vez, atraem os grupos de fosfato de cálcio para criar centros de nucleação e deste modo favorecer o crescimento do fosfato de cálcio [1].

Outra alternativa para aumentar a bioatividade e biocompatibilidade de ligas aplicadas em implantes ortopédicos foi desenvolvida por Catauro e colaboradores. Híbridos de classe I foram sintetizados pelo método sol gel a partir dos precursores, TEOS, água, etanol e ácido nítrico com adição de diferentes porcentagens policaprolactona (PCL) dissolvidas em clorofórmio e em seguida depositados em superfícies metálicas de titânio grau 4 [14]. Os resultados morfológicos indicaram que foram produzidos filmes finos e homogêneos e que a adição do PCL melhorou a elasticidade do revestimento, obtendo filmes livres de rachaduras. O desempenho biológico dos substratos não revestidos e revestidos foram comparados e avaliados por meio dos testes de bioatividade e WST-8 e foi detectado uma maior nucleação de hidroxiapatita na superfície dos substratos revestidos após a imersão em SBF. Além disso, foi registrada uma maior viabilidade das células de fibroblastos embrionários de murino NIH 3T3 semeadas nas superfícies revestidas. Deste modo, os resultados comprovam que a aplicação do revestimento melhora efetivamente a bioatividade e a biocompatibilidade dos substratos Ti grau 4 [14].

Aliado a isso, estão sendo desenvolvidos filmes protetores com adição de partículas bioativas pelo método sol-gel. A adição destas partículas, bem como a dissolução e re-deposição de compostos inorgânicos têm sido estudados como uma tentativa de formar filmes protetores bioativos ou funcionalizados que induzam o processo de osseointegração [11,32].

Com o objetivo de desenvolver revestimentos híbridos aplicados ao aço 316 L que apresentem melhores propriedades mecânicas capazes de resistir a processos cirúrgicos extremos em cirurgias ortopédicas [69], foram adicionadas a matriz do revestimento silano formado pelas reações entre os compostos TEOS e MTES, 10 e 30% em massa de nanopartículas de sílica. Para o referido estudo, os ensaios mecânicos e de aderência indicaram que a adição da maior concentração em massa de partículas coloidais de SiO_2 nas formulações híbridas produziu revestimentos com maior espessura e melhor aderência, e que este efeito atua como reforço mecânico, tornando a superfície mais adequada para resistir aos procedimentos cirúrgicos [69].

Com propósito semelhante, foram adicionadas a matriz de revestimentos híbridos a base de TEOS-MTES-SiO₂ depositados sobre as ligas de aço 316 L, partículas vítreas (SiO₂-P₂O₅-CaO) [70]. A formação e a qualidade óssea gerada em torno dos revestimentos híbridos com e sem adição das partículas foram avaliadas, e os resultados indicaram formação óssea em torno dos revestimentos híbridos sem adição de partículas vítreas com alta concentração de cálcio (Ca) e fósforo (P) na interface implante/tecido. Acredita-se que este fato esteja associado a camada de sílica formada no revestimento sol gel. No entanto, para os filmes com a adição de partículas bioativas foi notada melhoria na qualidade óssea com efeito homogêneo de Ca e P, baixa substituição de beta carbonato e cristalinidade, características análogas às apresentadas por um osso jovem e mecanicamente resistente [70].

Ademais, os revestimentos em que em sua composição contiverem partículas cerâmicas, podem estimular a maturação de osteoblastos (células especializadas, encarregadas da síntese, secreção e montagem da matriz mineralizada, ricas em colágeno, que compõem o tecido ósseo) [71], deste modo, minimiza a aderência de bactérias e a formação do biofilme, resultando na melhoria da resposta biológica e aceitação do implante [39,40].

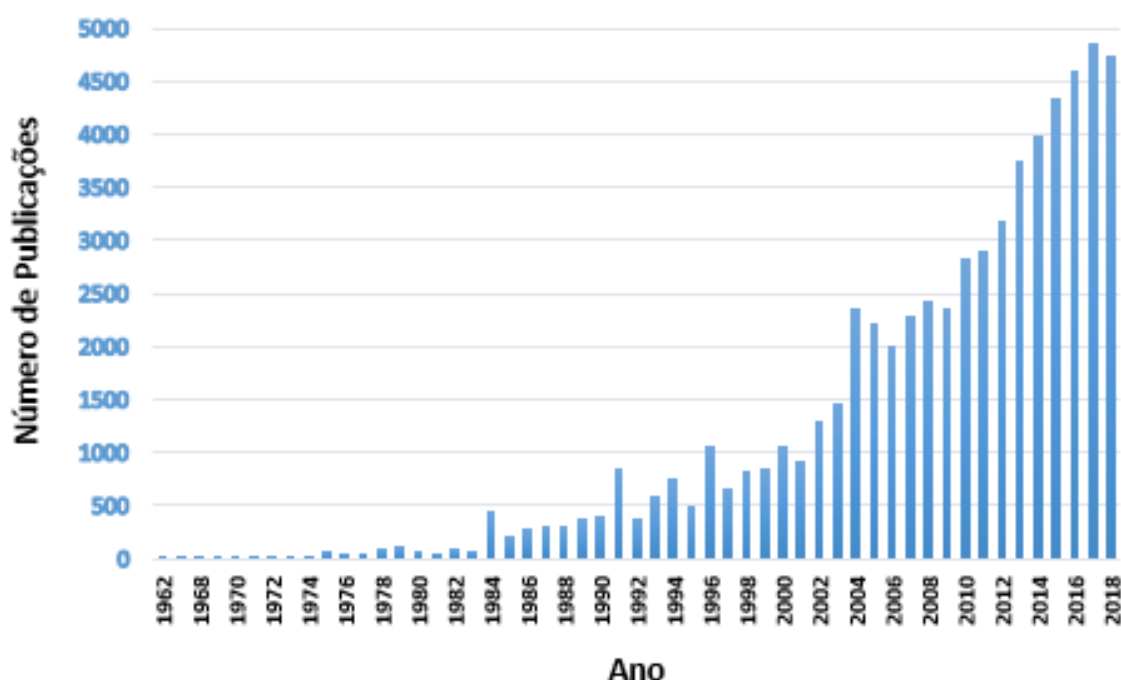
1.8 Motivação e Objetivos

A demanda por materiais seguros e eficazes está aumentando muito na ciência dos materiais devido ao aumento da população mundial, as altas demandas funcionais dos jovens e o número crescente de pessoas idosas. A alta taxa de natalidade e maior longevidade são fatores que contribuem para o aumento populacional em alguns países. Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), estima-se que mais de 900 milhões de pessoas no mundo possuem idade igual ou superior a 60 anos, e que este número chegará a aproximadamente 2 bilhões ainda na metade deste século [72]. A expectativa média de vida atual é de 66 anos, enquanto na década de 50 era de apenas 48 anos. Em alguns anos os idosos representarão um quinto da população do planeta e desta maneira, medidas de prevenção precisam ser adotadas ao considerar o desgaste de órgãos naturalmente ocasionados pela idade avançada. Nos últimos anos, a sociedade moderna testemunhou avanços científicos e tecnológicos nas mais diversas áreas em busca de qualidade e aumento da expectativa de vida, ramos da medicina e ciência dos biomateriais são destaques por criar alternativas para solucionar problemas atuais ao desenvolver e combinar materiais.

Ao considerar a importância e proporção que atingem os trabalhos desenvolvidos no campo das ciências dos biomateriais, o trabalho proposto torna-se atrativo por desenvolver revestimentos híbridos que combinam biomateriais conhecidos na literatura como o polímero PMMA e a liga metálica Ti-6Al-4V, e adicionar a esta matriz o agente bioativo ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$). A adição deste sal a matriz híbrida para fins biomédicos (produção de biovidros) já fora relatada por outros autores e comprovadamente auxiliam nos processos de produção de hidroxiapatita, tal como na reprodução celular.

A motivação do trabalho também está contextualizada no crescente número de pesquisas sobre o campo de biomateriais, visando um excelente desempenho e confiabilidade (Figura 6).

Figura 6 – Publicações sobre biomateriais ao longo dos anos.



Fonte: Scopus, (2019) adaptado

Este trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de revestimentos híbridos aplicados sobre a liga Ti-6Al-4V e obtidos a partir do processo sol-gel, com propriedades biocompatíveis e de resistência à corrosão. Para isso, os seguintes objetivos específicos foram estabelecidos:

- Analisar as propriedades estruturais e térmicas, a fim de estudar as interações entre as fases orgânicas e inorgânicas dos precursores;
- Investigar as propriedades morfológicas (homogeneidade, molhabilidade, dispersão do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, rugosidade) com o intuito de obter um filme com características que favoreçam a ossointegração entre o implante e o corpo humano, bem como estudar as propriedades a resistência à corrosão a partir de ensaios eletroquímicos em SBF;
- Avaliar a influência da adição do sal cloreto de cálcio no filme híbrido, as propriedades biocompatíveis em relação as propriedades protetivas.
- Analisar as propriedades biocompatíveis e crescimento celular dos filmes híbridos *in vitro*.

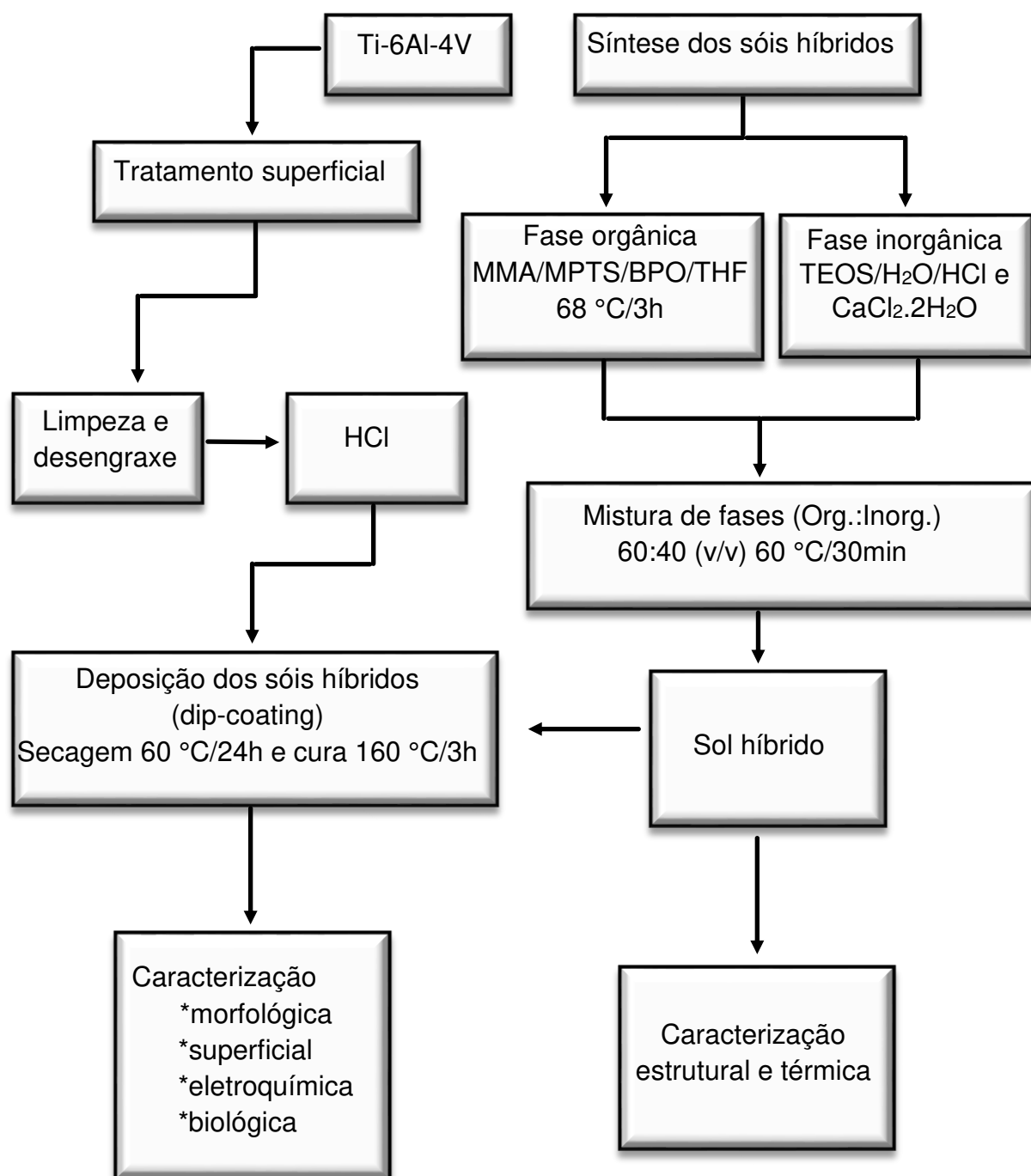
CAPÍTULO 2

MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Procedimento Experimental

A metodologia empregada nesta tese foi dividida em etapas, e o fluxograma abaixo (Figura 7) sumariza as etapas metodológicas adotadas.

Figura 7 – Fluxograma metodológico

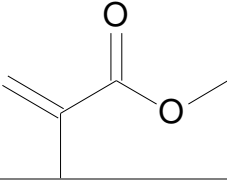
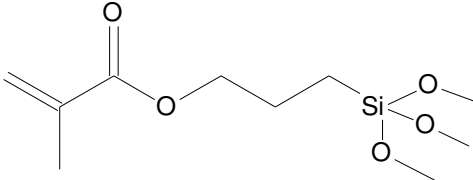
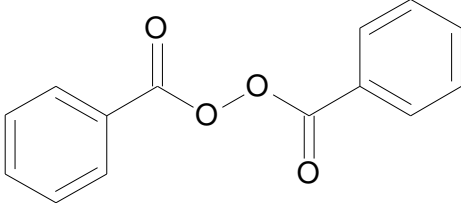
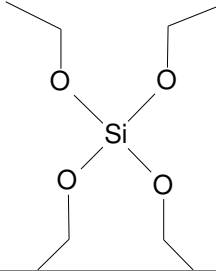
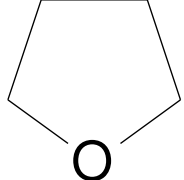


No presente capítulo serão apresentados os materiais e métodos utilizados para o desenvolvimento dos revestimentos híbridos Siloxano-PMMA aplicados a liga Ti-6Al-4V, além disto será mostrada a introdução e descrição das técnicas de caracterização e suas respectivas condições de análise utilizadas para investigar as propriedades estruturais, superficiais, eletroquímicas e biológicas das superfícies metálicas com e sem revestimento.

2.2 Precursores

Para a elaboração dos revestimentos híbridos foram utilizadas nos experimentos as substâncias químicas, 3-metacrilóxi-propiltrimetoxissilano (MPTS, 98%, Sigma-Aldrich), peróxido de benzoíla (BPO, 75%, Vetec), ácido clorídrico (HCl, Merck), tetraetoxi silano (TEOS, Aldrich), cloreto de cálcio dihidratado ($\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (CC), 99%, Sigma-Aldrich) e água deionizada. O Metacrilato de Metila (MMA, 98%, Neon) foi destilado a pressão atmosférica para a remoção de hidroquinona (inibidor de polimerização) e armazenado em refrigerador e o tetrahidrofurano (THF, 99%, 70%, Neon) foi seco com Sulfato de Sódio (Na_2SO_4 , 99%, Neon). A Tabela a seguir (Tabela 2) apresenta as nomenclaturas e fórmulas estruturais dos principais precursores utilizados nas sínteses dos híbridos.

Tabela 2– Nomenclaturas e fórmulas estruturais dos compostos utilizados para as sínteses dos híbridos.

Nomes dos Reagentes	Estrutura
Metacrilato de Metila (MMA)	
3-metacrilóxi propiltrimetoxisilano (MPTS)	
Peróxido de Benzoíla (BPO)	
Tetraetoxi silano (TEOS)	
Tetrahidrofurano (THF)	

2.3 Liga Ti-6Al-4V

A liga de titânio utilizada no presente estudo foi a Ti-6Al-4V adquirida da empresa Ti Brasil Titânio Ltda. na forma de lâmina, com espessura de 0,15 mm. Conforme certificado pelo fornecedor, o material apresenta especificações químicas requeridas pela norma *American Society Techines Materials* (ASTM) F136 [73], referente a aplicações da liga forjada utilizadas em implantes cirúrgicos (Tabela 3).

Tabela 3 - Composição química da liga Ti-6Al-4V.

Composição Química (% massa)	
Alumínio, Al	5,5 - 6,5
Vanádio, V	3,5 – 4,5
Carbono, C	≤ 0,08
Ferro, Fe	≤ 0,25
Oxigênio, O	≤ 0,13
Nitrogênio, N	≤ 0,05
Hidrogênio, H	≤ 0,012
Titânio, Ti	88,50 - 90,50

Fonte: ASTM (2012)

2.4 Síntese dos Híbridos Orgânicos-Inorgânicos

O processo para a produção dos revestimentos híbridos siloxano-PMMA ocorreu em duas etapas por meio do processo sol-gel. A primeira etapa consistiu na preparação da copolimerização do MMA e do MPTS (fase orgânica), enquanto a segunda etapa consistiu na preparação da fase inorgânica a partir de TEOS, solução aquosa de HCl (pH=1), água deionizada e o $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$. A adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ como fonte de cálcio atóxica à síntese dos sóis híbridos tem por objetivo criar um revestimento bioativo que possibilite a regeneração do tecido ósseo quando implantado. A formação do híbrido é resultado da mistura de ambas as fases para a formação de um sol homogêneo [11].

2.4.1 Síntese do Copolímero *p*(MMA-co-MPTS)

Para a síntese do copolímero, foi utilizada uma razão molar de MPTS/MMA= 0,1, sendo 0,037 mol de MPTS, 0,37 mol de MMA e 0,0002 mol de BPO, estes reagentes foram misturados por 10 minutos sob agitação a temperatura ambiente até a total homogeneização [74]. Em seguida, a mistura reacional foi vertida em um balão de três bocas acoplado a um sistema de refluxo juntamente com 45 mL de THF (solvente). Esta solução permaneceu no sistema

sob agitação e aquecimento à temperatura de 68 °C durante 3 horas. A solução resultante foi estocada em refrigerador para uso posterior [16],72],

2.4.2 Síntese dos Híbridos

Para a obtenção dos sóis híbridos, utilizou-se uma razão (em volume) de copolímero e fase inorgânica de 60:40 [11]. Inicialmente, foi preparada 10 mL da fase inorgânica ao misturar sob agitação a temperatura ambiente por 10 minutos os seguintes reagentes: TEOS, água deionizada, ácido clorídrico em uma razão molar de TEOS:H₂O:HCl de 1:8:0,01; e adicionadas a esta mistura diferentes razões molares de CaCl₂.2H₂O: 0, 0,1 e 0,2 em relação a razão anteriormente mencionada de TEOS:H₂O:HCl. Em seguida foram adicionados a esta mistura, 15 mL da solução estocada do copolímero, com posterior agitação por 5 minutos até a total homogeneização. A mistura total foi posteriormente transferida para um sistema de três bocas sob refluxo com agitação constante e aquecimento à temperatura de 60 °C durante 30 minutos até a obtenção do sol híbrido [11]. Os sóis híbridos foram nomeados em função das diferentes razões de CaCl₂.2H₂O adicionadas à composição. O sol híbrido sem adição de CaCl₂.2H₂O foi nomeado de CC0, enquanto os sóis híbridos com adição de CaCl₂.2H₂O, foram nomeados de CC1, aquele que apresenta razão molar 0,1 de CaCl₂.2H₂O e CC2 o que contém a razão molar 0,2 de CaCl₂.2H₂O.

Os sois híbridos foram armazenados em frascos do tipo *eppendorf* e colocados em estufa por um período de 24 horas a 80 °C até a total gelificação dos sistemas. Após gelificadas, as amostras foram maceradas e o pó fino de coloração esbranquiçada resultante foi utilizado para posterior caracterização estrutural (espectroscopia com transformada de Fourier (FTIR)) e análise termogravimétrica (TG) [20].

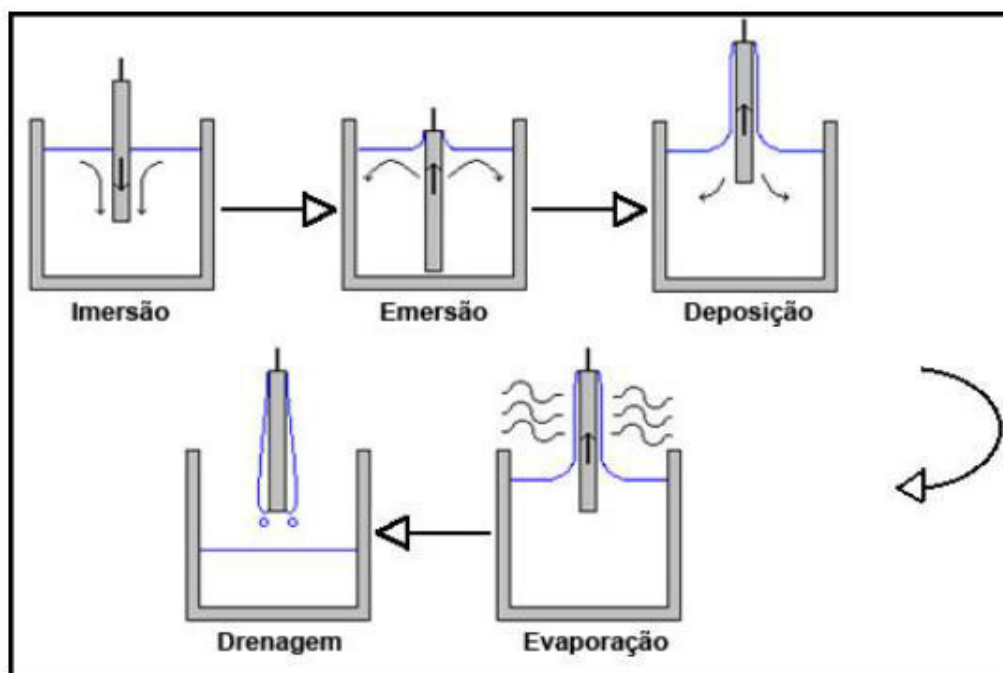
2.4.3 Preparação dos substratos metálicos e deposição dos filmes

Os corpos de prova foram cortados nas dimensões (20 X 20) mm, lixados com lixas de carvão de silício de grana até 1000, desengordurados com

detergente neutro e lavados. Em seguida foram imersos, por 30 segundos em uma solução de HCl 1 mol L⁻¹ a temperatura ambiente, sendo posteriormente lavados com água destilada, acetona e secos com ar frio. O processo de decapagem ácida com HCl foi utilizado para eliminar a camada de óxido e auxiliar na produção de superfícies limpas e uniformes [75]. A liga metálica Ti-6Al-4V tratada superficialmente foi denominada de SR (sem revestimento).

A deposição dos sóis híbridos nos substratos metálicos para a formação dos revestimentos foi realizada utilizando o método de deposição por *dip-coating* em um equipamento do modelo Marconi. O processo consiste na retirada, a uma velocidade controlada do substrato imerso no sol híbrido e pode ser dividido em cinco etapas: imersão, emersão, deposição, evaporação e drenagem. O substrato foi mergulhado na fase sol do híbrido por 300 segundos e retirado a velocidade constante de 14 cm min⁻¹, para a formação de uma monocamada [20]. A Figura 8 apresenta os esquemas das etapas envolvidas na deposição do filme por *dip-coating*.

Figura 8 - Esquema das etapas envolvidas na deposição do filme por *dip-coating*.



Fonte: SANHUEZA, 2000.

Os substratos revestidos com os sóis híbridos foram colocados em estufa e secos por 24 horas à temperatura de 60 °C e curadas por 3 horas à 160 °C [20].

2.5 Caracterização Estrutural

A espectroscopia de absorção na região de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) foi utilizada para analisar a estrutura química dos híbridos Siloxano-PMMA, tal como a influência da adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ na matriz híbrida. Os espectros FTIR foram obtidos em um aparelho Shimadzu modelo IR Prestige-21 operando no módulo de transmitância em uma faixa de 2000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} . O agente dispersante utilizado para o preparo das amostras foi o brometo de potássio (KBr) e as pastilhas foram preparadas em uma concentração 1-2% sob a pressão de 8 ton cm^{-2} . As medidas foram realizadas no Centro de Laboratórios de Química Multiusuários (CLQM), localizado no Departamento de Química da Universidade Federal de Sergipe - *Campus* Prof. José Aloísio de Campos em São Cristóvão-SE.

O comportamento térmico dos híbridos foi analisado por termogravimetria (TG). As curvas termogravimétricas foram obtidas em um equipamento TA Instruments Q50 sob atmosfera de argônio com fluxo de 60 mL min^{-1} . As análises foram realizadas a uma taxa de aquecimento de 5 °C min^{-1} de 25 °C até 600 °C em cadinhos de alumina com aproximadamente 7 mg de amostra na forma de pó. As curvas derivativas termogravimétricas (DTG) foram utilizadas para analisar os eventos térmicos com maior precisão. As medidas foram realizadas no Laboratório de Pesquisa em Materiais Híbridos (LPMH), localizado na Universidade Federal de Sergipe – *Campus* Prof. Alberto Carvalho em Itabaiana – SE.

2.6 Caracterização de Superfície

A caracterização morfológica dos substratos não revestidos e revestidos foi realizada em um microscópio eletrônico de varredura de alta resolução (FEG) marca Tescan, modelo Mira3 e os mapas elementares dos substratos revestidos foram gerados por espectrometria de energia dispersiva (EDS), utilizando o sistema X-Max da Oxford Instruments. As análises foram realizadas no

Laboratório de Caracterização de Materiais (LCMAT) na Universidade de Caxias do Sul (UCS).

A espessura dos revestimentos foi analisada por meio do corte em seção transversal, e os filmes foram quebrados e virados em um ângulo de 30°. Os substratos revestidos foram metalizados com alvo ouro e em seguida colocados em nitrogênio líquido por alguns segundos. Para as análises, um equipamento JEOL, modelo JSM-6510LV localizado no Laboratório de Estudos Avançados em Materiais na Universidade Feevale foi utilizado.

Os ensaios de ângulo de contato para os substratos não revestido e revestidos foram medidos baseados no método da gota séssil. Uma gota de água foi depositada sobre os substratos com o auxílio de uma seringa B-D Yale 3D; e o ângulo formado foi observado por meio de fotografias com lente de baixo aumento. Os valores reportados são a média de três ensaios e os dados foram adquiridos pelo Software Surftens 4.5. Os ensaios foram realizados no LCMAT na Universidade de Caxias do Sul (UCS).

A adesão dos revestimentos híbridos CC0, CC1 e CC2 foi investigada utilizando o teste padrão de fita (ASTM D3359), os quais foram realizados cortes em 7 linhas verticais e 7 linhas horizontais formando quadrados de 1 mm. Após 3 min de aplicação, a fita foi rapidamente removida, mantendo o ângulo o mais próximo de 180°. Em seguida, os substratos revestidos foram analisados no FEG para avaliar se houve ou não o despreendimento do revestimento híbrido Siloxano-PMMA. Os ensaios foram realizados no LCMAT na Universidade de Caxias do Sul (UCS).

As imagens de microscopia de força atômica (AFM) foram geradas em um microscópio da marca Shimadzu SPM-9700, operando em modo de contato, com sondas de nitreto de silício (nanosensores), com variação vertical de 8 µm e área de varredura de 10 x 10 µm. A evolução da rugosidade superficial foi avaliada por medidas de rugosidade média (Ra) obtidas com o auxílio do software Image J [76]. As medidas foram realizadas no LCMAT na Universidade de Caxias do Sul (UCS).

2.7 Caracterização Eletroquímica

Os ensaios eletroquímicos foram realizados no Departamento de Engenharia de Materiais e Cerâmica - DEMac, na Universidade de Aveiro em Portugal. Foi utilizado um potenciostato autolab modelo PGTAT 302N (METHROM) e as análises foram realizadas em uma célula eletroquímica convencional composta de três eletrodos: o eletrodo de calomelano saturado (ECS) foi usado como referência, um contra eletrodo de platina e os substratos de metal revestidos e não revestidos foram usados como eletrodo de trabalho com área superficial exposta de 0,739 cm².

Para os testes eletroquímicos foi utilizada uma solução de fluido corporal simulado (SBF) como eletrólito a 37 °C (pH 7,41) para simular as condições do ambiente corpóreo. A solução foi preparada de acordo com o protocolo desenvolvido por Kokubo e Takadama e as quantidades de reagentes utilizadas para o preparo da solução são apresentadas na Tabela 4 [77].

Tabela 4 – Quantidade de reagentes utilizados para o preparo da solução de fluido corporal simulado (1L).

Ordem	Reagentes	Quantidade
1	NaCl	8,035 g
2	NaHCO ₃	0,355 g
3	KCl	0,225 g
4	K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	0,231 g
5	MgCl ₂ .6H ₂ O	0,311 g
6	1.0 mol L ⁻¹ - HCl	39 mL
7	CaCl ₂	0,292 g
8	Na ₂ SO ₄	0,072 g
9	*Tris	6,118 g
10	1.0 mol L ⁻¹ -HCl	0-5mL

*Tris(hidroximetil)aminometano

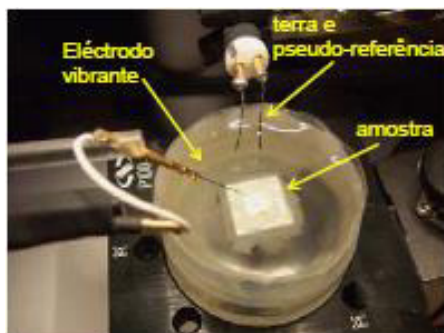
Os ensaios de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) foram realizados no potencial de circuito aberto após 1 hora de imersão em SBF a

37°C, com amplitude de 10 mV RMS e varredura de 100 kHz a 10 mHz com 10 pontos de frequência por década [20]. Os substratos não revestidos e revestidos foram monitorados durante 168 horas de imersão. Os ensaios foram realizados em duplicata.

As análises pela técnica do eletrodo vibrante de varrimento (SVET) foram realizadas em um equipamento produzido por *Applicable Electronics Inc.* (USA) e controlado pelo programa ASET 2.00 desenvolvido pela ScienceWares (USA). O eletrodo vibrante utilizado era composto de platina-irídio e recoberto com polímero, apenas com ponta descoberta (diâmetro de 10 μm). O eletrodo vibrou em duas direções, por exemplo, paralelo (eixo x) e perpendicular (eixo z) a superfície da amostra. As frequências de vibração em X e Z foram de 162 Hz, enquanto as amplitudes de vibração foram duas vezes o diâmetro da ponta. Os mapas SVET foram obtidos a uma distância média de 200 μm acima da superfície dos substratos.

Peças (1 \times 1) cm dos substratos não revestidos e revestidos foram coladas em um porta-amostras de epóxi de 3 cm de diâmetro e aproximadamente 1 cm de altura para medições SVET. As extremidades dos substratos foram isoladas com cera de abelha e colofônia (3 : 1/m : m), restando uma janela de alguns mm^2 exposta à solução teste (SBF). Uma fita adesiva foi aplicada ao redor do cilindro epóxi, produzindo assim um reservatório ($\sim 6 \text{ mL}$) [78]. O sistema de célula a qual as análises foram realizadas assemelha-se ao apresentado na Figura 9.

Figura 9 - Esquema de célula eletroquímica utilizada nos ensaios de SVET composta por um eletrodo vibrante, terra e pseudo – referência, a amostra e um reservatório de solução.



Fonte: BASTOS, 2013.

Dois sistemas foram investigados com base no SVET: o primeiro sistema consistiu na imersão dos substratos em solução de SBF por 168 h a 37 °C, enquanto o segundo consistiu em resultados obtidos em um potencial aplicado de -1,2 V por 1h e 168 h de imersão em solução de SBF a 37 °C. Estas medições foram realizadas com o auxílio de um potenciostato COMPACTSTAT IVIUM (The Netherlands) equipado com célula eletroquímica. Um fio de platina foi utilizado como contra-eletrodo (CE), enquanto Ag/AgCl/0,05 NaCl foi usado como eletrodo de referência (RE). A polarização negativa foi utilizada para este estudo porque permitiu correntes aceitáveis e o potencial de -1,2 V levou a correntes altas o suficiente para serem detectadas por SVET. Todos os ensaios foram realizados em duplicata.

2.8 Caracterização das Propriedades Biológicas

Os testes *in vitro* nos substratos não revestidos e revestidos foram realizados nos Departamentos de Engenharia de Materiais e Cerâmica e Biologia da Universidade de Aveiro – Portugal.

2.8.1 Testes de bioatividade *in vitro*

Para os testes de bioatividade *in vitro*, os substratos: liga de Ti-6Al-4V puro, liga de Ti-6Al-4V tratada superficialmente (SR), além dos substratos revestidos com os híbridos CC0 e CC2 foram alocados em recipientes de polietileno com 30 mL de solução SBF, os quais foram hermeticamente fechados e submetidos à 37 °C por 40 dias em forno mufla. Após esse período, as amostras foram lavadas com água destilada, secas em dessecador por 24 horas e analisadas no microscópio eletrônico de varredura.

2.8.2 Testes *in vitro*: Cultura celular

Para os ensaios de viabilidade e densidade celular e atividade mitocondrial os substratos não revestidos e revestidos (SR, CC0 e CC2) foram esterilizados

sob luz UV por 30 minutos de cada lado. Posteriormente, eles foram colocados em placas de cultura de 12 poços, e submergidos em alpha minimum essential medium eagle (α -MEM, Sigma) suplementado com soro fetal bovino a 10% (SFB, Gibco, BRL), L-glutamina 1 mmol L^{-1} (BioWhittaker), penicilina $200 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ (BioWhittaker), estreptomicina $200 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ (BioWhittaker), β -glicerolfosfato $50 \text{ } \mu\text{g mL}^{-1}$ (Sigma) e ácido L-ascórbico 10 mmol L^{-1} (Sigma), sob atmosfera de 5% de CO_2 a 37°C por 24 horas para estabilizá-los. Desta forma, células do tipo murino MC3T3 E1 da linhagem de células pré-osteoblásticas derivadas da calota craniana de camundongos C57BL/6, foram semeadas a uma densidade de $7,5 \times 10^3$ células por mL em α -MEM suplementado. O ensaio foi realizado sob atmosfera de 5% de CO_2 , a 37°C por 24 h.

O teste de exclusão do corante azul de tripano foi utilizado para estimar a viabilidade e densidade celular. O teste baseia-se no conceito de que as células viáveis não ocupam certos corantes, enquanto as células mortas são permeáveis a esses corantes. Após 24 horas de cultura, as células MC3T3-E1 cultivadas nas superfícies; controle (sem substrato) e dos substratos não revestidos e revestidos foram lavadas com solução salina tamponada de fosfato (PBS) e incubadas com 0,25% de tripsina-EDTA durante 10 min em atmosfera com 5% de CO_2 a 37°C para a separação. As células foram ressuspensas em meio de cultura e analisadas com o analisador de viabilidade (Vi-CELLRX, Beckman Coulter).

Os substratos foram submetidos ao teste de atividade mitocondrial (teste MTT), ensaio colorimétrico usado para determinar a atividade enzimática com base na atividade das desidrogenases mitocondriais de células vivas que reduzem o 3- [4,5-dimetiltiazol-2-il] -2,5- brometo de difeniltetrazólio (MTT) de cor amarela em cristais de formazano (composto de cor azul). A absorvância foi medida espectrofotometricamente a 570 nm. Os dados dos ensaios celulares foram expressos como média \pm desvio padrão de um representante de quatro experimentos independentes realizados em triplicata. A análise estatística foi realizada por meio do programa *Statistical Software Package for the Social Sciences* (SPSS) (versão 19). Comparações estatísticas foram feitas pela análise de variância (ANOVA).

CAPÍTULO 3

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Influência da Adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ à Matriz Híbrida na Formação dos Híbridos

3.1 Introdução

No decorrer deste capítulo serão apresentados o estudo, estrutural e térmico dos materiais híbridos sintetizados sem adição de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (CC0) e com a adição de cloreto de cálcio à matriz híbrida, variando a razão molar do sal de 0,1 (CC1) para 0,2 (CC2). Dessa forma, foi possível avaliar a influência da adição de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ nas propriedades estruturais e térmicas finais dos híbridos.

3.2 Influência da Quantidade de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ na Estrutura dos Híbridos

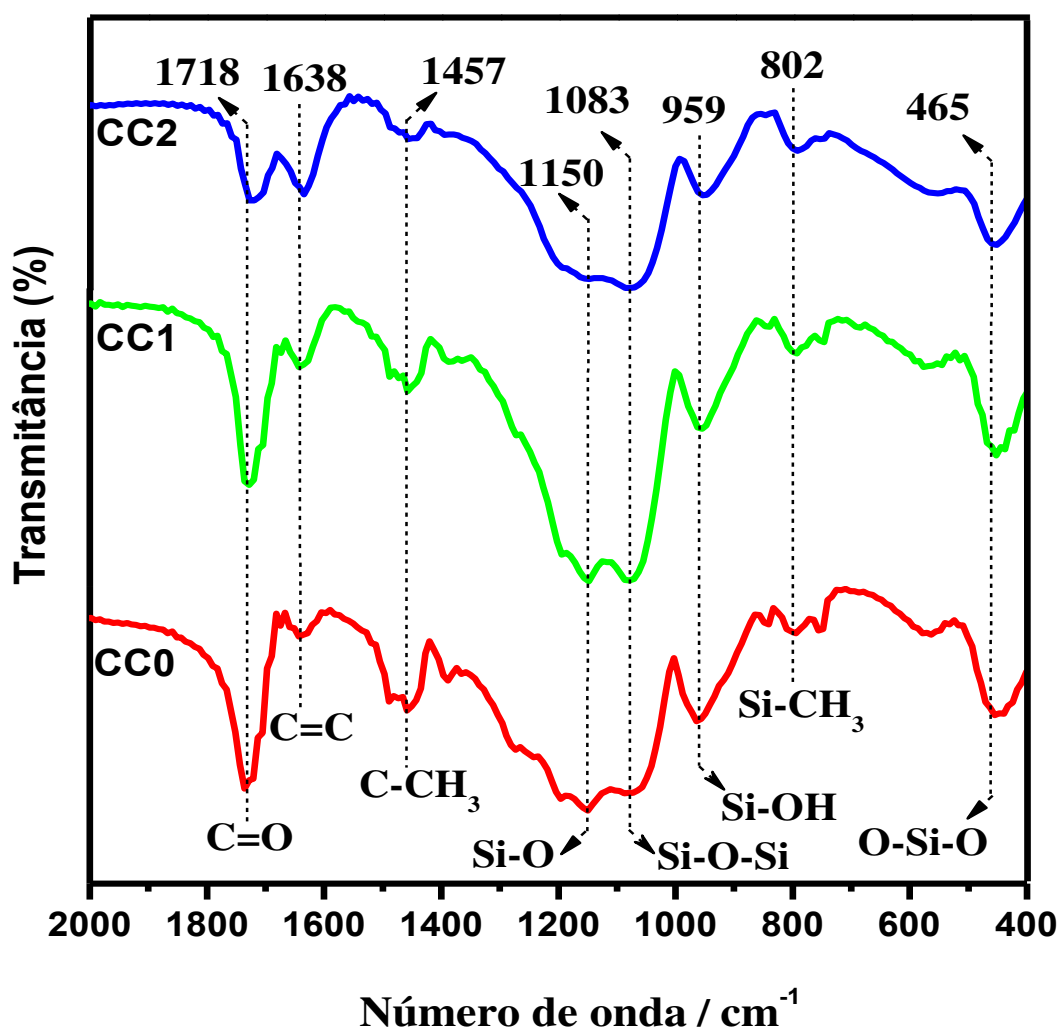
Na Figura 10 são apresentados os espectros de FTIR realizados para os híbridos CC0, CC1 e CC2 na forma de pó em uma região do espectro compreendida de 2000 a 400 cm^{-1} . As atribuições das bandas apresentadas nos espectros caracterizam a formação dos híbridos SiO_2 -PMMA [15,20,21], de modo que a similaridade observada entre os perfis das bandas para os diferentes híbridos está associada a presença de bandas características dos precursores, orgânico (MMA), inorgânico (TEOS) e do agente compatibilizante (MPTS), o qual apresenta em sua estrutura grupos funcionais semelhantes as duas fases [16,20].

Para todos os híbridos foi identificada uma banda em 1718 cm^{-1} atribuída a vibrações de estiramento dos grupos carbonila $\text{C}=\text{O}$ presentes em ambas estruturas poliméricas dos precursores MMA / MPTS [21,79]; uma banda em aproximadamente 1638 cm^{-1} atribuída a ligações $\text{C}=\text{C}$, indicou que a fase polimérica presente no híbrido ainda apresenta cadeias finais insaturadas [79] (monômeros não polimerizados). No entanto, apesar de apresentar em sua estrutura cadeias insaturadas, a polimerização dos grupos metacrilato pertencentes ao MMA e MPTS foi evidenciada pela presença de bandas em aproximadamente 1345 cm^{-1} e 1500 cm^{-1} , que referem-se ao alongamento assimétrico e simétrico de diferentes tipos de ligações $\text{C}-\text{H}$ [54].

Além disso, foram identificadas bandas nas regiões correspondentes às ligações de silício entre 1250 e 465 cm^{-1} , em 1150 cm^{-1} (estiramento de $\text{Si}-\text{O}$), 1083 cm^{-1} (vibrações de $\text{Si}-\text{O}-\text{Si}$), 959 cm^{-1} (vibrações $\text{Si}-\text{OH}$), 802 cm^{-1}

(vibrações Si-CH₃) e 465 cm⁻¹ (estiramento O-Si-O) [20,21]. A presença dos grupos Si-O-Si na estrutura dos híbridos indica que as reações de hidrólise e condensação permitiram a reticulação estrutural (ligações covalentes e ligações cruzadas). Entretanto, o aparecimento da banda em 802 cm⁻¹, correspondente a vibrações de Si-CH₃, indicou que a hidrólise dos precursores de TEOS e MPTS não foi completa, pois sabe-se que durante a reação de hidrólise ocorre a conversão desses grupos em grupos silanóis (Si-OH) [54].

Figura 10 - Espectros de FTIR dos híbridos siloxano-PMMA sem (CC0) e com adição de CaCl₂.H₂O (CC1 e CC2) apresentado na região de 2000 a 400 cm⁻¹.



Embora os híbridos tenham apresentado semelhanças no perfil espectral, foi observado que a adição da fonte de cálcio oriunda do sal CaCl₂.2H₂O na matriz híbrida influenciou nas reações químicas do processo sol-gel (polimerização,

hidrólise e condensação). Também foi notada para cada espectro individual, uma relação existente entre as bandas referentes as vibrações C=O em 1718 cm^{-1} e C=C 1638 cm^{-1} . Percebe-se que a medida que a quantidade de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ é aumentada na composição, ocorre uma diminuição da banda correspondente a ligação C=O, deste modo, este resultado indica que a adição da fonte de cálcio a matriz híbrida favorece a interação entre as fases, orgânica e inorgânica [79], concomitantemente ocorre o aumento das ligações C=C. Este acréscimo da intensidade dos grupos C=C sugere que a adição $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ à matriz híbrida inibi as reações de polimerização [16].

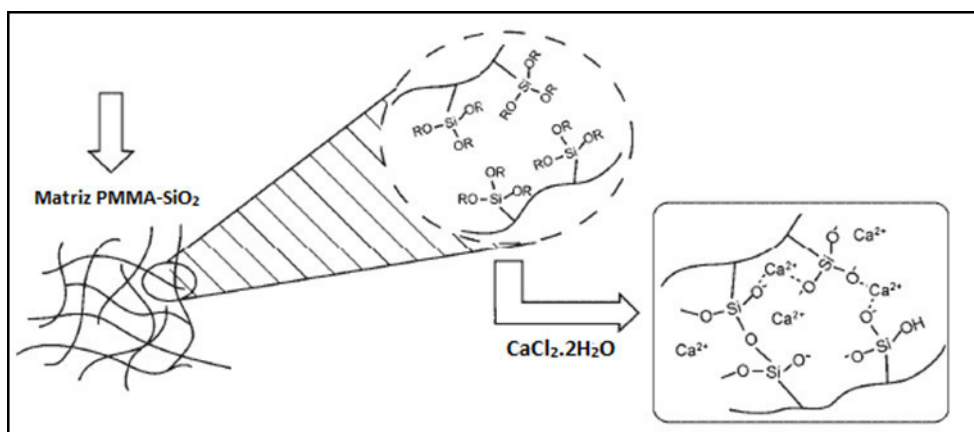
Além das diferenças mencionadas anteriormente para a fase polimérica dos híbridos, consideráveis alterações foram notadas na região compreendida entre 1250 a 960 cm^{-1} dos espectros. A mudança de perfil desta região que compreende preferencialmente as bandas referentes as espécies de silício, pode estar associada ao impedimento estérico/indutivo causado pela presença de moléculas de metacrilato durante o processo de formação das estruturas de silício, ou provenientes da sobreposição de bandas referentes ao polímero na mesma região [54].

Outra explicação para justificar as alterações ocorridas na região do espectro em que são identificados os grupos de silício está relacionada a adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ à matriz híbrida. Ao comparar as bandas dos espectros dos híbridos (CC0, CC1 e CC2) em 1150 cm^{-1} (estiramento de Si-O) e 1083 cm^{-1} (vibrações de Si-O-Si) foi observado que a medida que o sal de cálcio é adicionado a matriz híbrida ocorre uma inversão das bandas. Entretanto, ao relacionar as bandas em 1150 cm^{-1} (estiramento de Si-O) e 1083 cm^{-1} (vibrações de Si-O-Si) para cada híbrido individualmente foi percebido que a medida que o sal é adicionado, ocorre uma diminuição das ligações Si-O, e simultaneamente o aumento das ligações Si-O-Si. Logo, os resultados sugerem que ocorreram alterações durante o processo de reações de hidrólise e condensação. Estes resultados corroboram com os apresentados por Shirotsaki e colaboradores, em que ao utilizar o CaCl_2 na matriz dos híbridos a base de quitosana / GPSM via processo sol-gel foi verificado o aumento do grau de hidrólise e de condensação das reações, formando desta maneira mais ligações Si-O-Si [80].

Os resultados estruturais sugerem que os híbridos SiO_2 -PMMA, CC0, CC1 e CC2, possuem propriedades potenciais para serem utilizadas como revestimentos ao considerar a formação de um rede de sílica e fase polimérica reticulada [17] e que a incorporação do sal $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ pelo método sol-gel ocorreu de forma efetiva, característica que favorece a bioatividade do implante [11,58].

Na Figura 11 é apresentado o esquema ilustrativo da possível estrutura dos híbridos orgânicos-inorgânicos Siloxano – PMMA (híbridos de classe II), e em sequência a estrutura do híbrido após a adição de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, mostrando que os íons Cálcio (Ca^{2+}) e os átomos de Oxigênio (O) podem ligar-se por meio de ligações iônicas [58].

Figura 11 - Esquema ilustrativo dos híbridos orgânicos-inorgânicos com a adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ desenvolvido no trabalho.

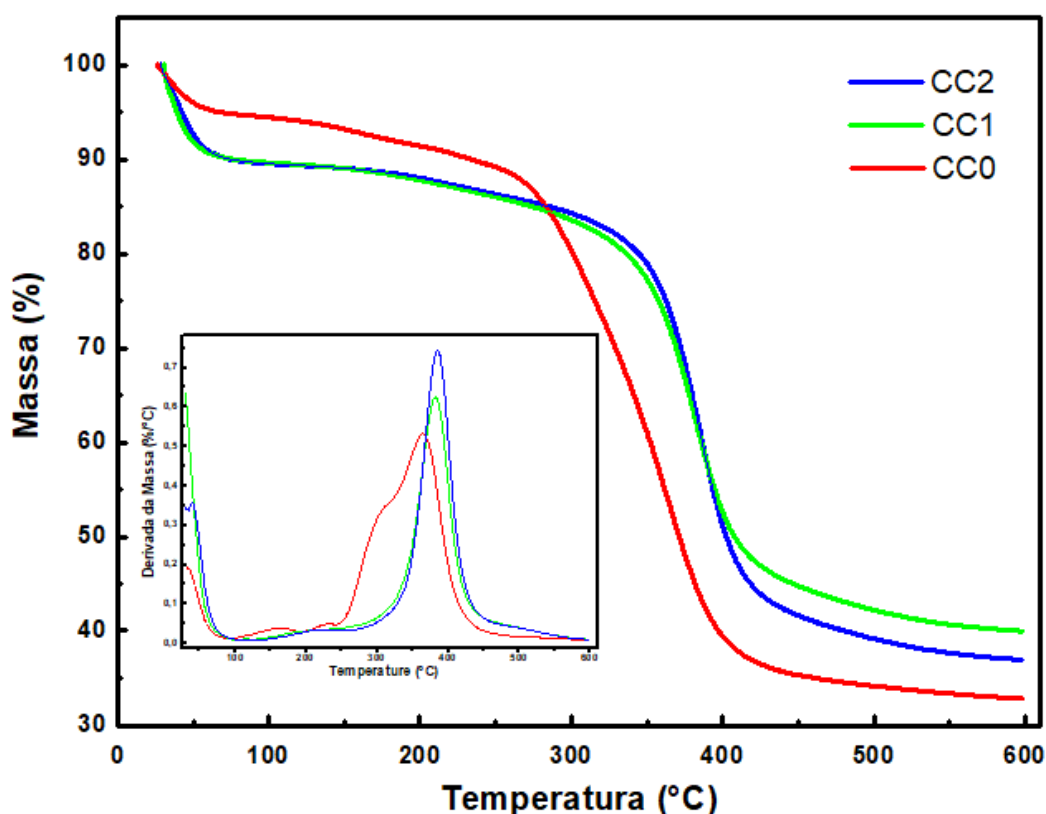


Fonte: Alterado de Kickelbick, (2007).

3.3 Estudo da Adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ nas Propriedades Térmicas dos Híbridos

No presente trabalho também foi avaliada a influência da adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ nas propriedades térmicas dos híbridos. Na Figura 12 são mostradas as curvas de degradação térmica e suas respectivas derivadas para os híbridos Siloxano – PMMA com diferentes razões do sal de cálcio, CC0, CC1 e CC2.

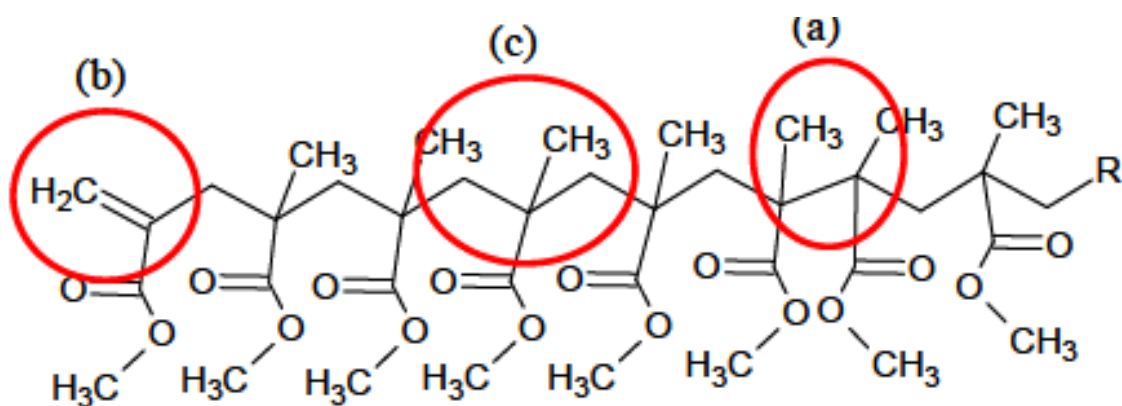
Figure 12 - Curvas TG/ DTG de materiais híbridos siloxano-PMMA sem adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (CC0) e com adição de adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (CC1 e CC2) em um intervalo entre a temperatura ambiente, 25°C e 600 °C.



Os materiais híbridos produzidos no presente trabalho possuem a maior parte da sua formulação composta pela fase orgânica (razão em volume orgânica/inorgânica (60:40)), deste modo, os estágios de perda de massa dos híbridos foram associados àqueles apresentados por Kashiwagui e

colaboradores, para o polímero PMMA puro. Na Figura 13, tem-se apresentada uma ilustração de cadeia PMMA, com destaque para os segmentos: (a) cabeça-cabeça, (b) terminações insaturadas, e em (c) cabeça-cauda. Ao longo de um processo de degradação térmica, cada segmento da cadeia polimérica foi associado a um estágio, correspondente a um determinado intervalo de temperatura [81].

Figura 13 - Ilustração de uma cadeia de PMMA, destacando em (a) segmento cabeça-cabeça, em (b) insaturação terminal e em (c) segmento cabeça-cauda.



Fonte: CARVALHO, (2012).

Com base em dados da literatura, a degradação térmica do PMMA ocorre evidentemente em três estágios, o primeiro, presente em um intervalo de temperatura de 100 a 200 °C (Figura 13 (a)), desencadeado pela despolimerização dos segmentos cabeça-cabeça (menos estáveis) [79,81,82]. O segundo evento acontece em um intervalo de temperatura entre 250 e 300 °C (Figura 13 (b)), e refere-se as degradações ocasionadas pelas terminações de cadeias insaturadas, enquanto o terceiro estágio, o qual apresenta um valor de temperatura máxima de despolimerização acima de 350 °C, é associado a despolimerização randômica (segmentos cabeça-cauda) (Figura 13 (c)) [79,81,82].

Os resultados apresentados nas curvas de TG da Figura 12 mostraram diferenças no processo de degradação térmica dos híbridos CC0, CC1 e CC2, entretanto, para analisar de forma precisa as regiões de temperatura em que

ocorrem as perdas de massa mais evidentes foram utilizadas as derivadas das suas curvas.

Dentre os híbridos estudados, o CC0 (sem $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) foi o que apresentou um perfil de curva de degradação mais semelhante ao PMMA puro, com três estágios de degradação bem definidos 100 a 250 °C (cabeça-cabeça), 250 a 300 °C (insaturações terminais) e em torno de 365 °C (cabeça-cauda), enquanto os híbridos em que foi adicionado o sal de cálcio, CC1 e CC2, apresentaram apenas dois estágios de degradação semelhantes entre si, o primeiro estágio ocorreu no intervalo de temperatura de 150 a 250 °C e o segundo evento em 385 °C, associado as cisões de cadeias aleatórias. A adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ promoveu o deslocamento dos estágios de degradação para temperaturas mais elevadas indicando que houve uma contribuição do sal adicionado na estabilidade térmica dos híbridos, além da formação de uma estrutura de cadeia polimérica mais regular, notada pela ausência do estágio de perda de massa referente aos seguimentos cabeça-cabeça. Apesar da abrangência de temperaturas que não são as utilizadas nas condições normais de trabalho, os resultados da análise de TG confirmam a influência da adição do sal na polimerização das cadeias poliméricas observada nos espectros de FTIR (Figura 10).

Vale ressaltar ainda, que os estágios de perda de massa referentes as insaturações de final de cadeia exibidos nas curvas DTG, bem como, a identificação das bandas de vibração C=C nos espectros de infravermelho (Figura 10) para os híbridos, CC0, CC1 e CC2, comprovaram a polimerização incompleta dos precursores MMA e MPTS [79,81,82].

Na Tabela 5 são expostos os valores de temperatura para as perdas de massa de 10% e 50% dos híbridos CC0, CC1 e CC2, tal como os valores em porcentagem dos resíduos gerados para cada amostra, estudos similares de perda de massa foram realizados por Carvalho e colaboradores . Baseados nesses valores foi observada a influência da adição do sal dihidratado nas temperaturas de perdas de massa.

Tabela 5 - Temperaturas de perda de massa de 10% e 50 % e porcentagens de resíduos para híbridos siloxano-PMMA sem adição de cloreto de cálcio (CC0) e com adição de cloreto de cálcio (CC1 e CC2).

Amostra	T _{0,1} (°C)	T _{0,5} (°C)	Resíduo a 600°C
CC0	233	371	33%
CC1	76	408	40%
CC2	74	402	37%

Para a amostra CC0 (sem a adição do sal), a perda de massa apresentada inicialmente de 10% correspondente a uma temperatura em torno de 223 °C, no entanto, para os híbridos com adição de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (CC1 e CC2) a perda de 10% de massa ocorreu em torno de 75 °C. Os resultados de perda de massa ocorridos até uma temperatura próxima à 100 °C, pode estar associado a perda das moléculas de água adsorvidas a superfície, evaporação de solventes remanescentes da síntese, bem como a degradação de monômeros de MMA não polimerizados [15,21,74]. Menores valores de temperatura para a perda de massa inicial dos híbridos, CC1 (76 °C) e CC2 (74 °C) eram esperados comparativamente a apresentada pelo híbrido CC0 (233 °C) devido a maior concentração de água nas amostras provenientes da adição do sal dihidratado a matriz híbrida. Para o híbrido CC2, a razão do sal de cálcio adicionado foi maior, o que é explicado pela maior concentração de água em sua composição e consequentemente menor valor de temperatura de perda de massa inicial.

Com relação as perdas de 50% em massa, os híbridos CC1 e CC2 apresentaram valores de temperatura de 408 e 402 °C, respectivamente. Estes valores de maior temperatura de decomposição, em comparação com o valor apresentado para o híbrido CC0 (371 °C), comprovaram que as proporções de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ utilizadas para as formulações dos híbridos, permitiram o aumento da estabilidade térmica. No que se refere aos resíduos gerados, a adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ a matriz híbrida favoreceu a formação de mais resíduos (40% e 37 %, respectivamente), indicando que a adição do sal a matriz híbrida favoreceu

as reações de condensação e formação da rede Si-O-Si, logo, o resíduo gerado em maior proporção foi associado a sílica [21,54]. Esses resultados corroboram com os apresentados nos espectros de FTIR (Figura 10), em que foi observado o aparecimento de forma mais acentuada da banda em 1083 cm^{-1} referente as vibrações Si-O-Si a medida que é aumentada a quantidade de Ca^{2+} [80].

Os resultados estruturais e térmicos dos híbridos em função da adição do sal $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ comprovaram a influência da fonte de cálcio no processo de formação dos materiais híbridos, influenciando efetivamente nas reações de hidrólise, condensação e polimerização, conferindo a estes materiais propriedades estruturais diferentes e maior resistência térmica.

CAPÍTULO 4

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Influência da Adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ na Formação dos Revestimentos Híbridos

4.1 Introdução

No atual capítulo, serão apresentados os resultados dos estudos referentes as superfícies e morfologias da liga SR e com os revestimentos híbridos em função da influência da adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ na matriz híbrida. O estudo de aspectos da superfície metálica e dos revestimentos como, homogeneidade, espessura de camada, aderência, molhabilidade e rugosidade torna-se essencial para obtenção de revestimentos com propriedades finais relevantes para aplicações anticorrosivas e bioativas.

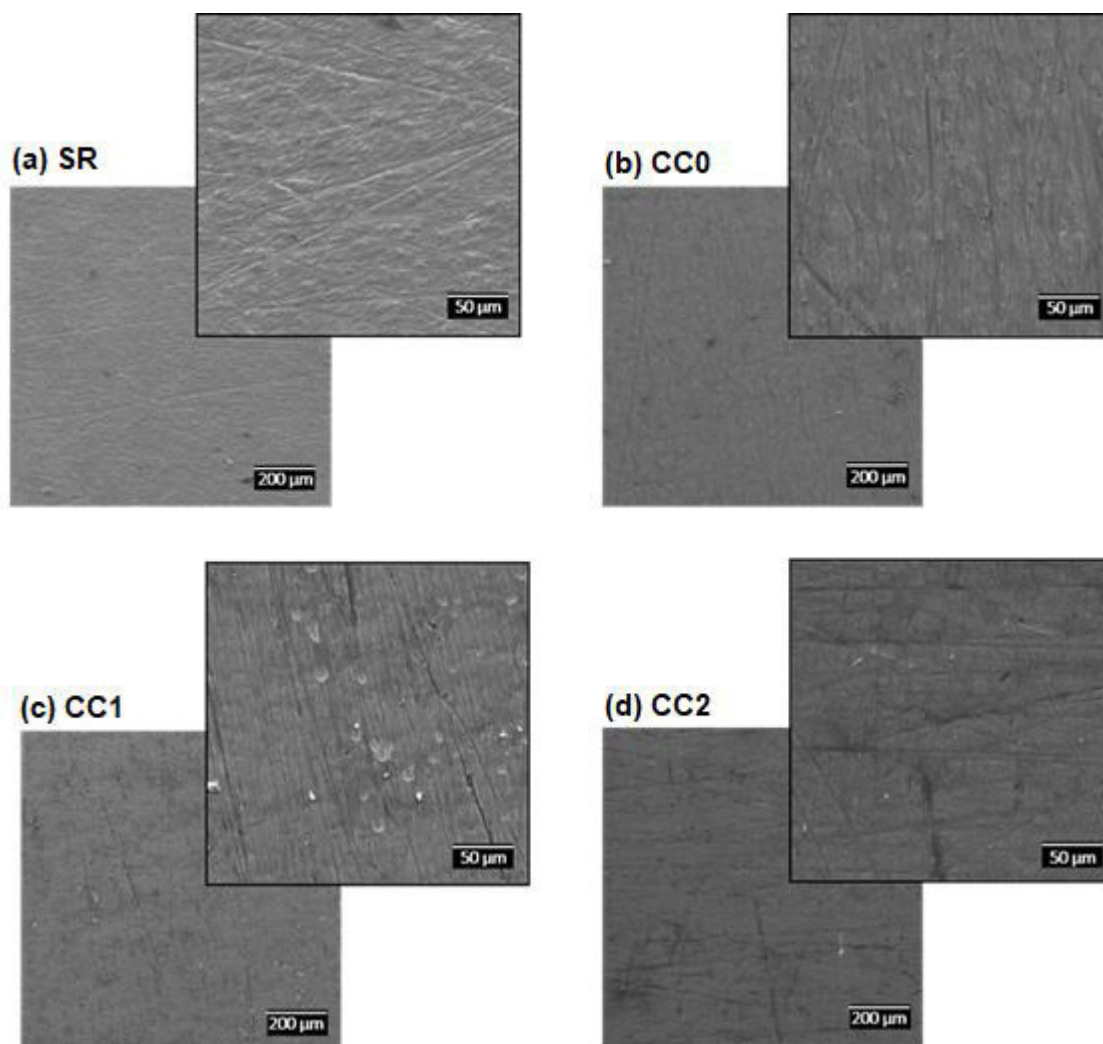
4.2 Análise Morfológica da Influência da Adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ na Formação dos Revestimentos Híbridos

Na Figura 14 são apresentadas as micrografias obtidas para as superfícies metálicas sem revestimento (SR) e revestidas com os híbridos, CC0, CC1 e CC2 em duas diferentes magnitudes: 250 e 1000 x. Na Figura 14 (a) para a liga SR foram observadas irregularidades na superfície, as quais foram associadas ao tratamento mecânico superficial com lixas e ácido clorídrico [63,83]. Esta etapa de pré-tratamento superficial para a remoção de óxidos e impurezas é fundamental pois auxilia no processo de adesão do filme sol-gel a ser depositado [75].

As micrografias mostradas nas (Figuras 14 (b), 14 (c) e 14 (d)) revelaram que todos os revestimentos formaram uma camada de cobertura uniforme e sem rachaduras aparentes. Vale salientar que esses resultados são provenientes dos mecanismos de ligações entre o substrato metálico e o filme depositado. Os revestimentos híbridos quando depositados formam inicialmente ligações de Van der Waals com a superfície metálica, chamadas de metalosilanos, e em seguida durante o processo de secagem são formadas as ligações covalentes estáveis (Si-O-Si), conferindo ao filme aderência ao substrato metálico [84]. Além disso, a presença do componente orgânico PMMA na composição favorece a redução da porosidade do revestimento, tornando-o mais flexível e menos propenso a rachaduras no processo de secagem [20,75,84].

Como pode ser observado nas micrografias da Figura 14, de modo geral os revestimentos produzidos apresentaram aspectos morfológicos semelhantes. Para todos os revestimentos foram visualizadas falhas em forma de riscos análogos as apresentadas pela liga SR, porém em menor quantidade, indicando desta maneira que a cobertura formada pela camada de revestimento híbrido diminuiu as irregularidades superficiais da liga SR [21,75,84].

Figura 14 - Micrografias de topo obtidas por MEV-FEG para as superfícies a) SR b) CC0 c) CC1 e d) CC2 com magnificação original de 250 x e 1000 x - em destaque na parte superior.

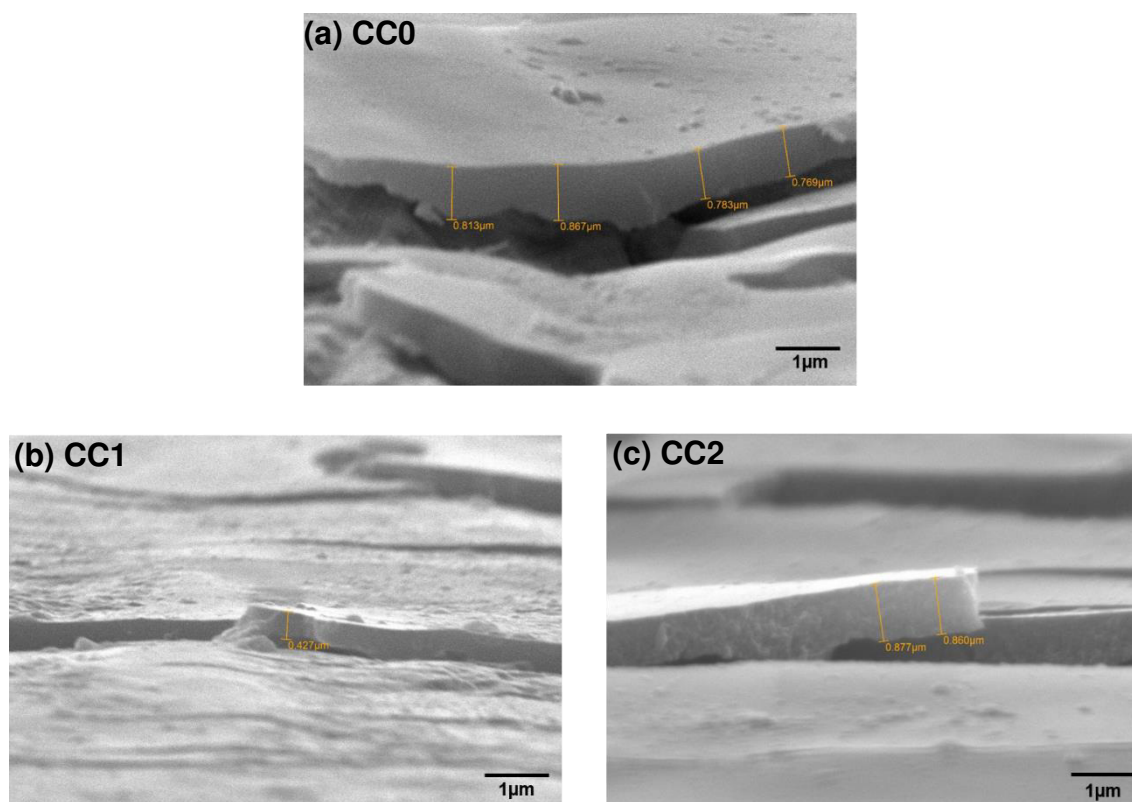


Além disso, foram identificadas nas superfícies dos revestimentos CC1 e CC2, pequenos aglomerados (*clusters*) espalhados, os quais podem ser melhor visualizados na imagem ampliada do revestimento CC1 (Figura 14 (c)). Estes

resultados são consistentes com os publicados por Baldin e colaboradores, o qual divulgaram que a incorporação de partículas inorgânicas na matriz sol-gel pode influenciar as reações de condensação e gerar pequenos aglomerados de partículas de sílica [12]. A formação desses aglomerados também pode estar associado ao acúmulo de acrilato provenientes do processo de cura do revestimento, espécies de MMA não polimerizadas podem volatilizar e criar regiões tensionadas, e deste modo, causar defeitos no revestimento [20].

Ainda sobre os revestimentos híbridos, uma ruptura prévia nos filmes foi realizada para medir a espessura de camada e os resultados são apresentados na Figura 15.

Figura 15 – Micrografias obtidas no MEV para estimar a espessura da camada para os revestimentos híbridos a) CC0, b) CC1 e c) CC2.

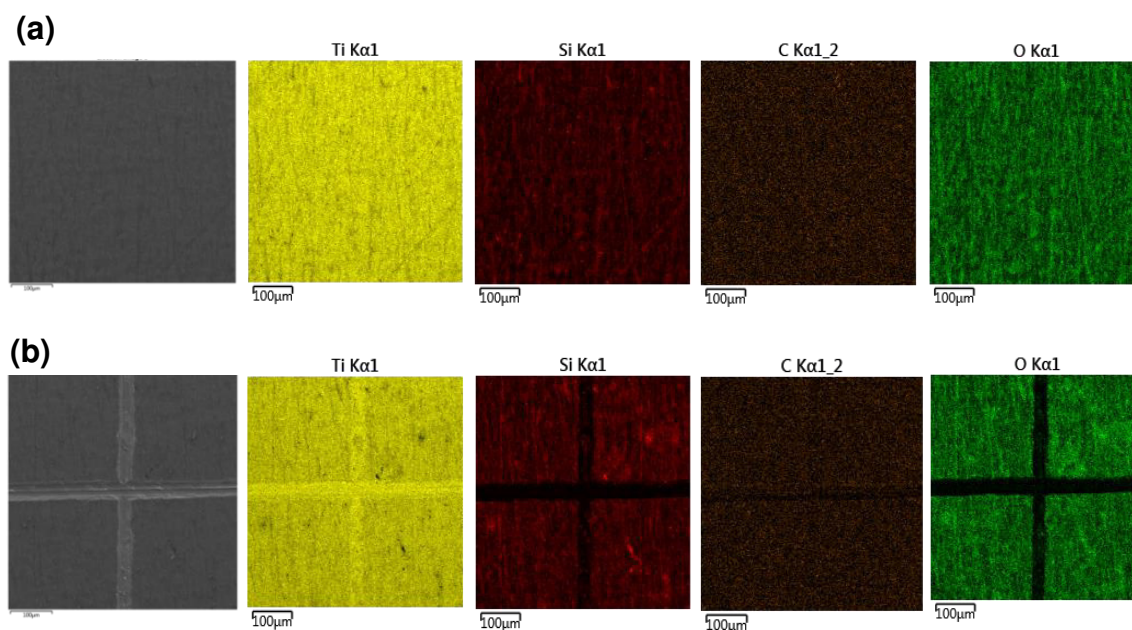


Os ensaios de espessura de camada realizados comprovaram a eficiência do método sol-gel para a formação de filmes finos. Todos os filmes produzidos apresentaram espessura menor que 1 µm, logo, apresentaram uma rede rígida Si-O-Si [20,63]. Os revestimentos produzidos sem a adição de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, CC0

(Figura 15 (a)) e com a máxima razão do sal, CC2 (Figura 15 (c)), apresentaram valores médios de espessura semelhantes, iguais a $0,821 \mu\text{m} \pm 0,035 \mu\text{m}$ e $0,879 \mu\text{m} \pm 0,017 \mu\text{m}$, respectivamente (próximos a $1 \mu\text{m}$). Esses valores de espessura de camada são comumente encontrados em sistemas similares aos produzidos, nos quais revestimentos sol-gel são aplicados a ligas metálicas para a prevenção de processos corrosivos [20,63]. No entanto, o revestimento CC1 (Figura 15 (b)) apresentou um valor médio de espessura de camada inferior aos demais, igual a $0,592 \mu\text{m} \pm 0,035 \mu\text{m}$. Esta redução da espessura do filme foi intimamente relacionada ao aumento da densidade proveniente de processos de maior reticulação da rede de sílica [85].

As imagens apresentadas nas Figuras 16, 17 e 18 são referentes aos mapeamentos por EDS para os revestimentos híbridos, CC0, CC1 e CC2 respectivamente, antes (a) e após (b) realização dos testes de aderência seguindo a norma ASTM D3359-09. Estes ensaios permitiram avaliar a homogeneidade das amostras, bem como a dispersão e influência da adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ na matriz híbrida e a aderência dos filmes depositados a superfície metálica. Foi detectado para todos os filmes híbridos, alta intensidade do sinal do elemento titânio (Ti) o que comprova que os revestimentos híbridos possuem baixa espessura, possibilitando desta maneira, a passagem do feixe de elétrons e detecção do substrato Ti-6Al-4V [63].

Figura 16 - Mapeamento por EDS da superfície do revestimento híbrido CC0 (sem adição de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) antes (a) e após o teste de aderência (b).



Como observado, os revestimentos híbridos apresentaram homogeneidade ao longo da extensão das superfícies ao considerar a distribuição e concentração dos elementos silício (Si), carbono (C), e oxigênio (O). Isso comprova a formação da rede compacta de silício (Si-O-Si), tal como a polimerização da fase orgânica tendo em vista a distribuição do elemento carbono, corroborando, deste modo com os resultados apresentados e discutidos na seção de caracterização estrutural. No entanto, em algumas regiões dos mapeamentos por EDS para o silício, foi verificado o aumento da concentração do elemento, e o contraste na intensidade das cores foi associado a pequenos aglomerados de Si, semelhantes aos identificados nas imagens de MEV (Figura 14 (c) e (d)), e da mesma maneira mais facilmente visualizados nos mapas EDS dos revestimentos com adição de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ na composição, Figuras 17 (a) e 18 (a).

Com relação aos revestimentos com adição de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ à matriz híbrida CC1 e CC2, (Figuras 17 e 18), os mapeamentos por EDS detectaram o elemento cálcio e revelaram o seu alto grau de dispersão por toda a superfície dos revestimentos, em maior concentração para o filme CC2 (Figura 18), como esperado tendo em vista a maior razão molar do sal.

Estudos ao longo dos anos revelaram que a dispersão de partículas inorgânicas em matrizes híbridas potencializam as propriedades estudadas, tais como luminescentes, anticorrosivas, térmicas ou bioativas [11,12,54,86], deste modo, a presença e distribuição do cálcio por toda a extensão do revestimento torna o sistema mais propício ao aumento da bioatividade, visto que favorece a formação da hidroxiapatita na superfície aumentando assim, a biocompatibilidade entre a superfície implantada e o tecido ósseo [11,80]. Logo, estes resultados comprovaram a eficiência do processo sol-gel para a produção de revestimentos homogêneos dopados com partículas inorgânicas para o estudo de propriedades bioativas e anticorrosivas.

Os mapeamentos por EDS obtidos das superfícies dos revestimentos após os ensaios de aderência (Figuras 16 (b), 17 (b) e 18 (b)), demonstraram que a homogeneidade na distribuição dos elementos foi mantida. Mesmo após as incisões, os revestimentos permaneceram aderidos. No entanto, os filmes apresentaram baixo sinal de silício nas regiões em que as incisões foram realizadas, apesar de não haverem sido encontradas falhas ou descamações

dos revestimentos no entorno destas regiões. Esta menor concentração de silício foi observada mais nitidamente para os revestimentos CC0 e CC2 comparativamente ao mapeamento apresentado para o revestimento CC1, este resultado corrobora com o apresentado anteriormente nos testes de espessura de camada, em que o filme mais fino CC1 contém uma rede densa de sílica que favorece a aderência ao substrato [63].

De modo geral, estes resultados sugerem que os revestimentos híbridos CC0, CC1 e CC2 possuem força adesiva, ou seja, interação entre a superfície do filme e o substrato de forma coesa e forte devido às ligações intermoleculares presentes no revestimento. Resultados similares foram encontrados por outros pesquisadores para sistemas híbridos siloxano-PMMA e estes atribuíram a boa aderência entre os filmes e os substratos à formação das ligações metal-O-Si, formadas entre os grupos funcionais reativos dos precursores silanos e os grupos hidroxilas presentes nas superfícies dos substratos [21,85].

Figura 17 - Mapeamento por EDS da superfície do revestimento híbrido CC1 (razão molar 0,1 de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) antes (a) e após o teste de aderência (b).

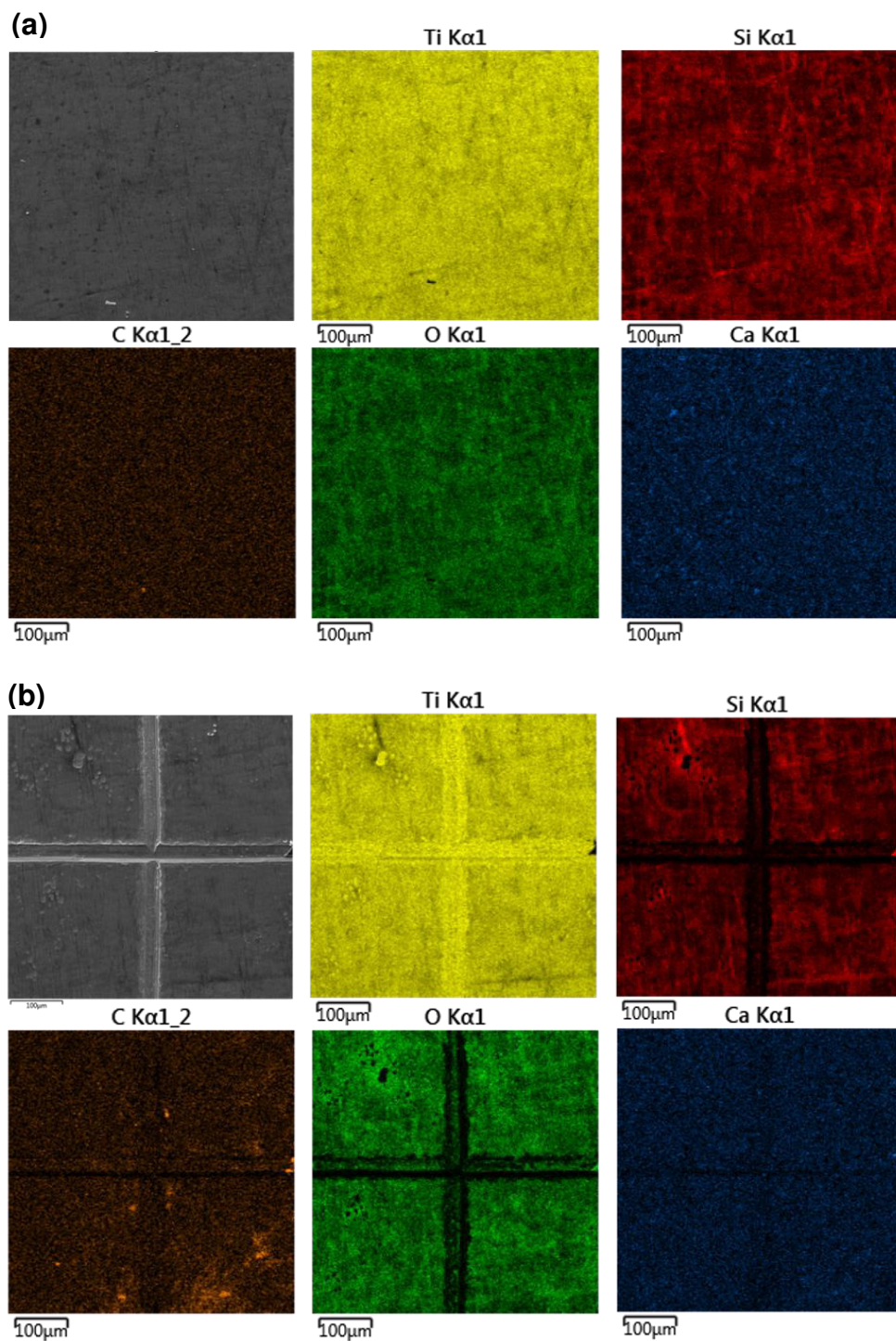
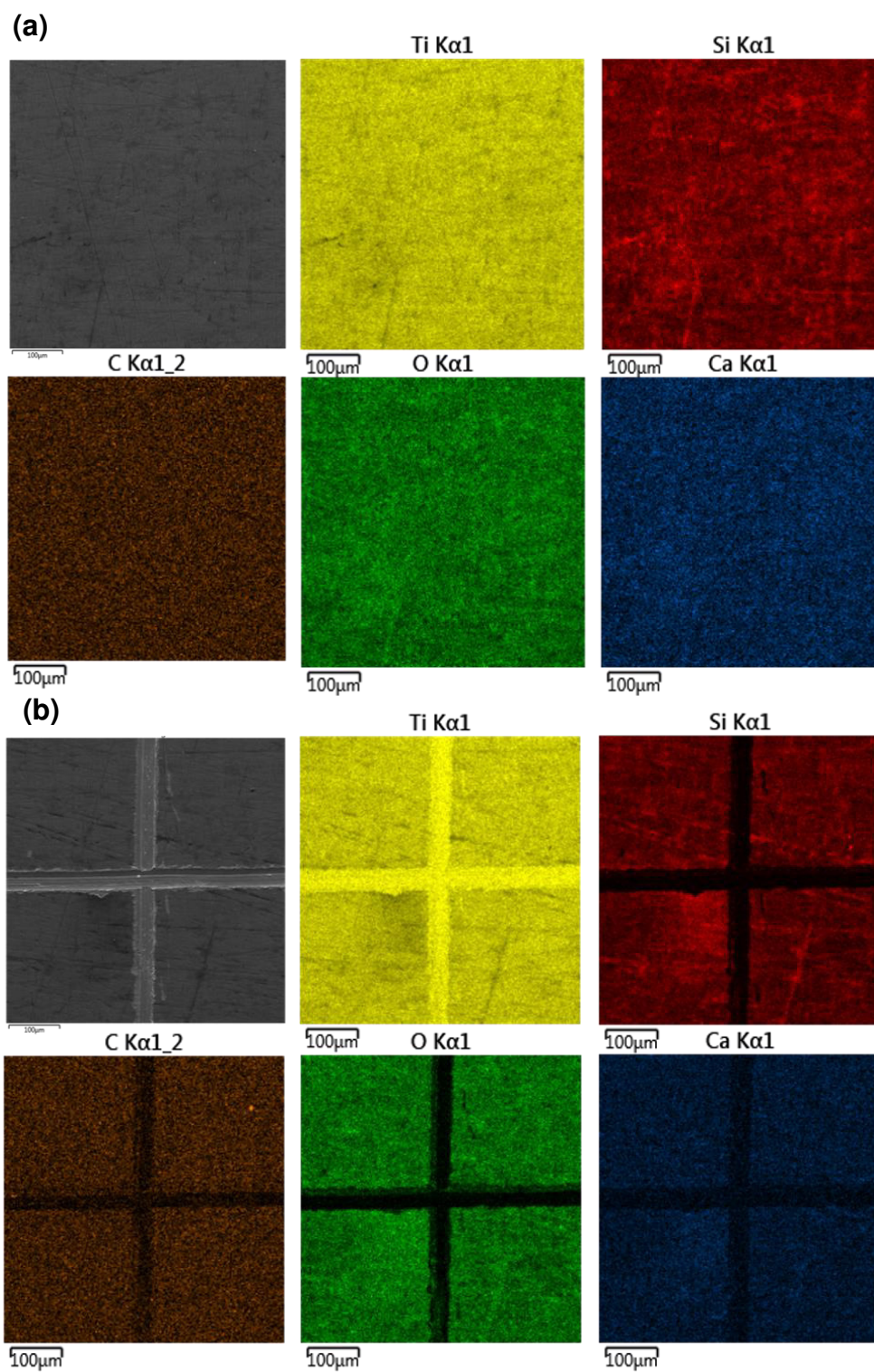


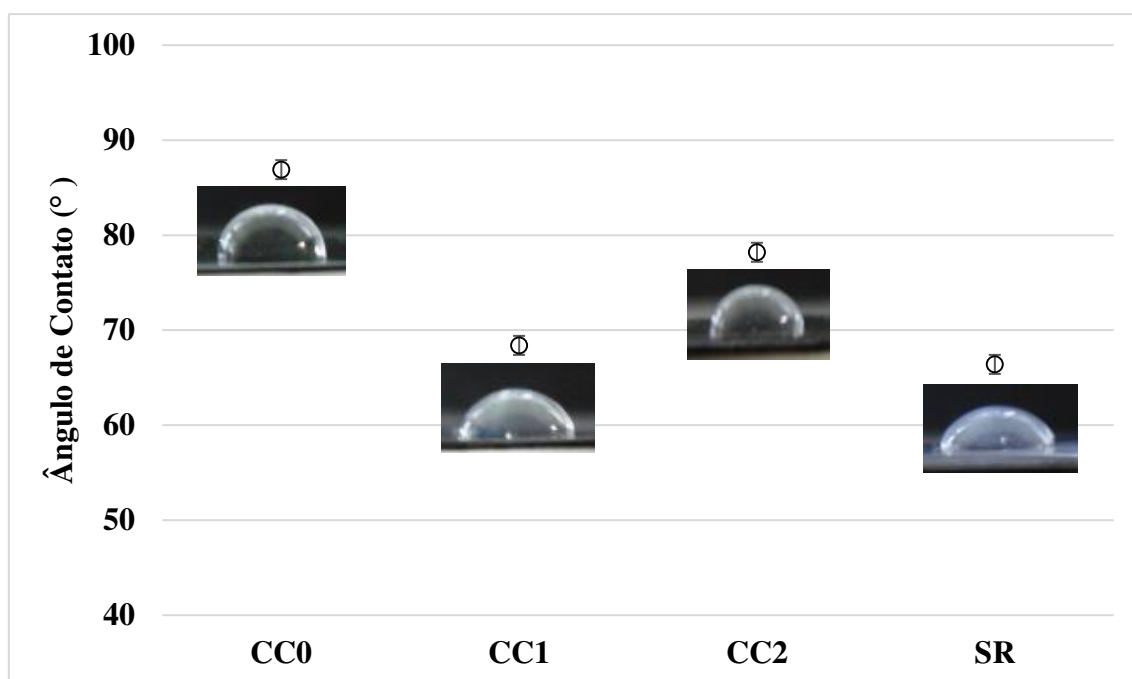
Figura 18 - Mapeamento por EDS da superfície do revestimento híbrido CC2 (razão molar 0,2 de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) antes (a) e após o teste de aderência (b).



Outra propriedade superficial importante de ser estudada durante o desenvolvimento de revestimentos protetivos aplicados a ligas biomédicas é a

molhabilidade. Na Figura 19 são apresentadas imagens da molhabilidade das superfícies sem revestimento (SR) e revestidas com os filmes híbridos Siloxano-PMMA: CC0, CC1 e CC2 após os ensaios de ângulo de contato (θ) utilizando gotas sésseis.

Figura 19 - Gráfico de molhabilidade e desvio-padrão obtido para os sistemas: CC0, CC1, CC2 e SR.



Termos como hidrofiliicidade e hidrofobicidade são usados para descrever a afinidade das moléculas de água ao se espalharem na superfície de qualquer substrato, afinidade esta que se deve à força de interação formada quando a gota entra em contato com o material [87].

Uma superfície é considerada hidrofílica quando possui afinidade ao líquido, logo apresentando valores de ângulo de contato da superfície menores que 90° , enquanto que a superfície é considerada hidrofóbica quando possui menor afinidade a água e apresenta valores de $\theta > 90^\circ$ [87]. Entretanto, os valores de ângulo de contato divergem e diversos fatores podem justificar a mudança na natureza da superfície metálica ao adicionar o filme híbrido, tornando-a menos hidrofílica.

Conforme apresentado na Figura 19, os valores de ângulo de contato e seus respectivos desvios padrão para as superfícies SR ($66,4^\circ \pm 0,63^\circ$) e os revestimento híbridos CC0 ($86,9^\circ \pm 0,81^\circ$), CC1 ($68,4^\circ \pm 0,57^\circ$) e CC2 ($78,2^\circ \pm 0,57^\circ$) divergem. Com base nos valores apresentados de $\theta < 90^\circ$, todas as superfícies foram classificadas como hidrofílicas, no entanto, a liga SR e o revestimento CC1 possuem superfícies de natureza mais hidrofílicas comparadas as superfícies dos revestimentos CC0 e CC2. A molhabilidade da liga SR pode ser justificada em consequência da remoção do óxido de titânio presente na superfície, que promove um aumento na energia livre superficial, bem como ao aumento da rugosidade na superfície, o que confere à superfície um caráter mais hidrofílico [75].

A deposição dos revestimentos híbridos CC0, CC1 e CC2 reduziu a molhabilidade da superfície metálica (SR) tornando-a assim uma alternativa mais atrativa para aplicações anticorrosivas. A formação de um revestimento reticulado restringe a passagem de espécies corrosivas na interface revestimento/metal [35].

O grau de hidrofobicidade que um revestimento de superfície promove está diretamente relacionado com a sua capacidade de resistência à corrosão, sendo essa, proporcional ao ângulo de contato do líquido com a superfície do revestimento [88]. Todos os revestimentos híbridos produzidos são suficientemente reticulados (*cross-linking*), e este efeito foi comprovado nas análises estruturais (FTIR) e morfológicas (MEV, espessura, EDS e aderência), entretanto a adição da fonte de cálcio $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ alterou significativamente as reações de hidrólise e condensação, as quais são fundamentais para a formação dos revestimentos, e estes apresentaram diferenças que refletem nas propriedades, como por exemplo a molhabilidade.

O maior valor de ângulo de contato conferido ao revestimento CC0 ($86,9^\circ \pm 0,81^\circ$) foi associado ao desempenho do revestimento híbrido preparado, que forma uma barreira física, suficientemente reticulada (*cross-linking*) durante as reações de policondensação e, deste modo, apresenta um ângulo de contato de ordem de aproximadamente 90° e, conseqüentemente, menos hidrofílico do que os demais revestimentos.

Valores menores de ângulo de contato foram esperados para os revestimentos CC1 e CC2, comparativamente ao CC0, tendo em vista a adição

do CaCl_2 hidratado na superfície. Entretanto, não apenas a concentração do sal adicionado foi responsável pela maior hidrofilicidade desses revestimentos. A partir dos ensaios de espessura realizados, esperava-se que o revestimento CC1 tivesse formado uma camada de sílica mais densa, devido a baixa espessura comparada aos outros revestimentos e consequentemente obteve-se o maior valor de ângulo de contato. No entanto, os resultados de molhabilidade revelaram que apesar de ter formado um filme fino, as microrugosidades causadas pelo pré-tratamento da liga, bem como a formação de *clusters* de silício, mais evidentes para essa amostra e comprovados pelos ensaios de EDS tornou a superfície mais hidrofílica.

Quanto ao caráter mais hidrofílico apresentado pelos revestimentos CC1 e CC2, este pode estar relacionado com as ligações Metal-O-Si formadas a partir das reações de hidrólises, as quais podem ser reversíveis. Em contato com a água essas ligações podem ser hidrolisáveis levando a formação novamente dos grupos MeOH e SiOH eliminando a hidrofobicidade da superfície. Logo, uma possibilidade para proteger essas ligações Metal-O-Si, é a formação de um filme híbrido altamente reticulado durante o processo de condensação ou cura do filme [87]. Desta forma, dentre os revestimentos produzidos, o CC0 possui o maior potencial para aplicações de resistência à corrosão ao considerar o menor caráter hidrofílico proveniente da alta reticulação da rede de sílica.

No entanto, ainda que tenham apresentado caráter mais hidrofílicos, os revestimentos híbridos, CC1 e CC2, formadas pela adição de partículas inorgânicas podem aumentar a capacidade de induzir a formação de cristais do tipo apatita nas superfícies, sugerindo uma boa atividade *in vitro* para os revestimentos, possibilitando o uso desses materiais em aplicações de regeneração óssea [89].

Apesar de apresentarem diferenças nos valores de molhabilidade superficial, é sabido que a utilização do revestimento híbrido, de forma geral, promove o aumento da eficiência da proteção barreira da liga, diminuindo a permeação do eletrólito, bem como, a lixiviação dos íons da liga para o ambiente corpóreo.

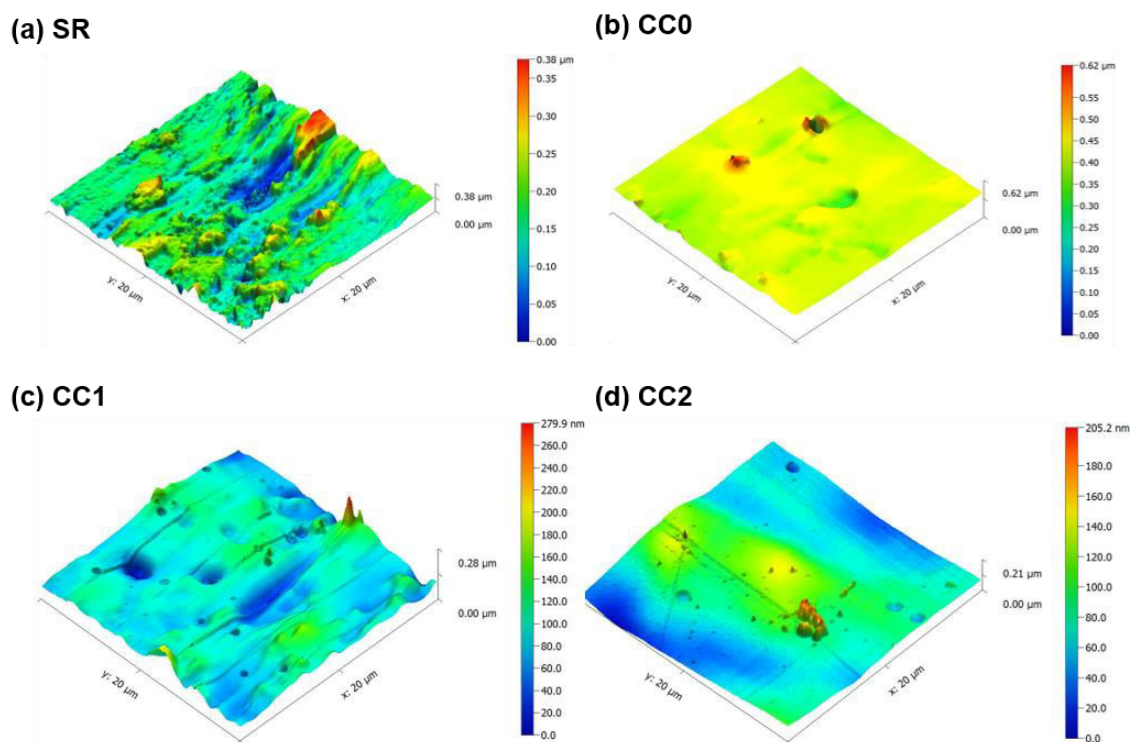
Outra importante observação é que, por apresentarem caráter hidrofílico, a liga SR e os revestimentos híbridos tornam-se favoráveis para o processo de adesão celular [87], visto que, estudos demonstram que as células se aderem em maior quantidade sobre superfícies moderadamente hidrofílicas, como os

revestimentos CC1 e CC2, os quais possuem uma fonte de cálcio em sua composição [90].

De forma geral, a adesão celular ideal pode ser alcançada em superfícies moderadamente hidrofílicas, uma vez que os sistemas extremamente hidrofílicos falham em suportar a adesão celular, pois a camada de água adsorvida bloqueia a adsorção de proteínas [90].

Além da molhabilidade, a rugosidade da superfície é outro parâmetro extremamente importante a ser estudado, tendo em vista as aplicações anticorrosivas e biológicas. A Figura 20 apresenta imagens tridimensionais obtidas por AFM para as superfícies sem revestimento (SR) e com os revestimentos híbridos CC0, CC1 e CC2.

Figura 20 - Imagens 3D obtidas por AFM das superfícies, não revestida (SR) e revestidas, CC0, CC1, CC2.



Como pode ser observado na Figura 20 e confirmado a partir dos valores apresentados de rugosidade média (R_a) das superfícies apresentados na Tabela 6, todas as superfícies apresentaram morfologia irregular. A liga SR (Figura 20 (a)) apresentou superfície irregular, com defeitos gerados pelo pré-tratamento

superficial (tratamento mecânico e químico) e com valor de rugosidade média (Ra) de aproximadamente 5,2 nm. Entretanto, as superfícies dos revestimentos híbridos CC0 (Figura 20 (b)), CC1 (Figura 20 (c)) e CC2 (Figura 20 (d)) apresentaram valores de Ra iguais a 0,9 nm, 1 nm e 0,7 nm, respectivamente, indicando deste modo que o revestimento sol-gel depositado diminuiu a rugosidade média apresentada pela superfície SR, tornando-a mais regular [39,61,63].

Tabela 6 - Valores de rugosidade médias obtidos pela análise de AFM para a liga SR e os revestimentos híbridos CC0, CC1 e CC2.

Amostra	Valor de Ra em nm
CC0	$0,9 \pm 0,1$
CC1	$1,0 \pm 0,3$
CC2	$0,7 \pm 0,2$
LIGA SR	$5,2 \pm 0,5$

Na Figura 20 (b) o revestimento híbrido CC0, comparativamente a liga SR, apresentou uma topografia homogênea, apesar de apresentar algumas regiões com maiores alturas, provavelmente relacionados à formação de agregados de acrilato (manchas amarelas) [91]. Estes efeitos na superfície podem estar associados ao processo de formação do filme, sistemas contendo quantidades diferentes de MMA, tornando-os irregulares em algumas regiões da superfícies [91].

Os revestimentos CC1 e CC2 também apresentaram uma topografia mais regular que a liga SR e foi possível identificar para esses revestimentos, nas Figuras 20 (c) e (d)) manchas em cores azul-escuro e azul-claro, as quais foram relacionadas à diferença na composição química nessa região específica, associadas ao acúmulo de sílica, formação dos *clusters*. Apesar das descontinuidades mostradas nos revestimentos CC1 e CC2, com adição do $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ vale salientar que os filmes híbridos depositados contornaram a

rugosidade da superfície SR já existente devido à operação de tratamento superficial, tornando-a mais homogênea [75].

Os resultados de Ra para as superfícies SR, CC0, CC1 e CC2 sugerem que os revestimentos são atrativos para aplicações anticorrosivas comparativamente a liga SR, visto que, menores valores de rugosidade superficial melhora o desempenho de resistência à corrosão. Ribeiro-Filho e colaboradores, demonstraram que pequenas diminuições nos valores de Ra da superfície podem promover uma elevada melhora na resistência à corrosão [92]. Outros autores [93], também citam que o potencial eletroquímico de um implante metálico varia conforme a rugosidade da superfície, portanto, uma superfície mais rugosa apresenta menor restrição para os elétrons serem liberados, resultando em um menor potencial eletroquímico [93].

Em termos de aplicação como biomaterial, em implantes dentários e ortopédicos, o estudo da topografia torna-se importante. Tendo em vista que a resposta das células à rugosidade do implante depende do tipo de célula [39]. Algumas possuem preferências por topografias ásperas outras suaves, como é o caso das células osteoblastos ou análogas a osteoblastos que preferem superfícies rugosas de ordem 2 μm , enquanto os fibroblastos, tipo de célula mais comum encontrado no tecido conjuntivo, possuem melhor aderência a superfícies suaves (0,04 μm) [94].

Diante disso, com base nos resultados apresentados para os parâmetros estudados de superfície química, molhabilidade e topografia nos capítulos 3 e 4, todos os revestimentos produzidos CC0, CC1 e CC2 apresentam propriedades potenciais de biocompatibilidade, bioatividade e resistência à corrosão comparativamente a liga sem revestimento SR. No entanto, busca-se um revestimento que apresente um equilíbrio entre as propriedades, atuando como anticorrosivo e biocompatível.

CAPÍTULO 5

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudo da Resistência à Corrosão

5.1 Introdução

Avaliou-se o comportamento eletroquímico da liga sem revestimento (SR) e da liga revestida com os híbridos (CC0, CC1 e CC2) imersos em solução SBF a 37 °C por técnicas eletroquímicas: espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) e a técnica do eletrodo vibrante de varrimento (SVET).

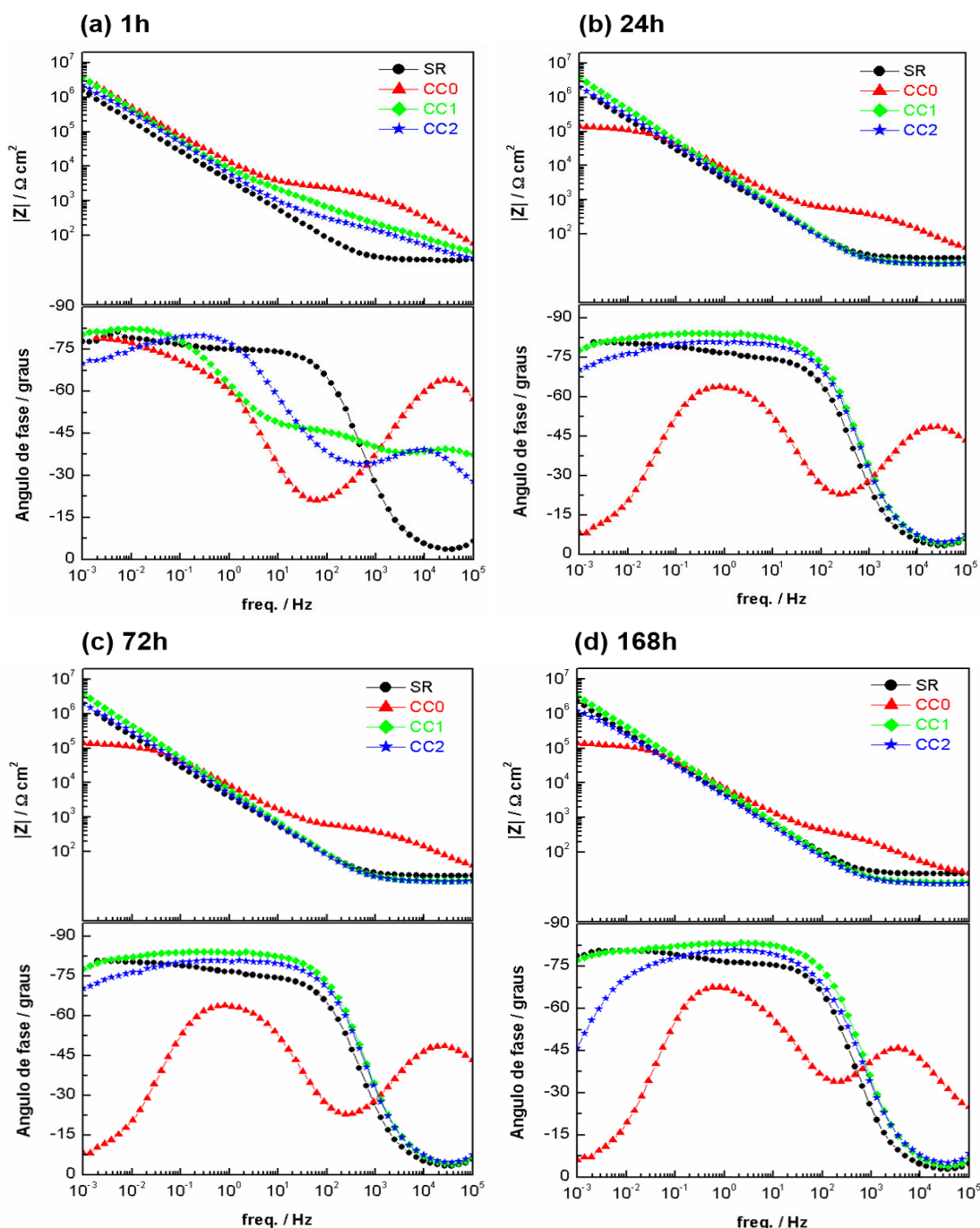
5.2 Estudo da Resistência à Corrosão

Na Figura 21 são representados em diagramas de Bode, os resultados obtidos nos ensaios de espectroscopia de impedância eletroquímica (EIE) para as superfícies metálicas, não revestida (SR) e revestida com os híbridos CC0, CC1 e CC2 durante 1h, 24h, 72 h e 168 horas de imersão em SBF a 37 °C.

Para o substrato sem revestimento SR (Figura 21), foi observado apenas um fenômeno entre o período de 1 hora e 168 horas de imersão, localizado na região de média para alta frequência atribuído ao óxido passivo formado sobre a superfície. A resposta do óxido a médias frequências atesta a permeabilidade do eletrólito por meio do filme passivo, assim como sua instabilidade. Acredita-se que uma das causas da instabilidade do óxido formado sobre a liga Ti-6Al-4V é a precipitação de óxidos de alumínio e vanádio concomitantemente com o óxido de titânio. Esse complexo de óxido na superfície da liga Ti-6Al-4V apresenta menor estabilidade termodinâmica ou cinética quando comparado ao óxido de titânio (TiO₂) que é formado sobre o metal puro [95].

Com base em características termodinâmicas envolvidas durante o processo de formação dos óxidos, Heakal e colaboradores, relataram que a presença de alumínio e vanádio diminui a resistência à corrosão e deteriora a passivação característica do titânio puro quando ligado a esses elementos, fato comprovado por meio de testes eletroquímicos [96]. Salvador e colaboradores, também observaram fenômenos de média para alta frequência nos ensaios de EIE para a liga de Ti-6Al-4V e atribuíram a presença deste evento a instabilidade na proteção temporária do óxido formado na superfície da liga [3].

Figura 21 - Diagramas de Bode obtidos para a liga sem revestimento (SR), e para os revestimentos híbridos CC0, CC1 e CC2, após (a) 1 hora, (b) 24 horas, (c) 72 horas e (d) 168 horas de imersão em SBF a 37 °C.



Para os revestimento CC0 (sem adição do sal de cálcio à matriz híbrida), foi observada a presença de dois fenômenos para os tempos de imersão de 1h, 24h, 72h e 168h: a) o primeiro, em uma região de média pra baixa frequência, atribuído a mudança da condutividade elétrica durante a exposição ao meio

corrosivo de SBF, ou seja, este comportamento foi associado a permeabilidade do eletrólito por meio do filme, bem como a resposta do filme passivo abaixo do revestimento sol-gel [97] b) o segundo fenômeno presente em alta frequência foi relacionado a presença do revestimento protetivo, indicativo de elevada resistência do filme depositado [61,97]

O bom desempenho do revestimento CC0 foi comprovado na primeira hora de imersão em SBF em alta frequência (Figura 21 (a)). Esta proteção foi associada a presença dos grupos Si-O-Si na estrutura do revestimento. A formação de uma rede densa limita o acesso de eletrólitos ao metal, formando uma barreira de difusão efetiva contra o ataque corrosivo [63]. Conforme apresentados e discutidos nas seções anteriores nos ensaios de MEV (Figura 13), espessura (Figura 14) e ângulo de contato (Figura 18), este revestimento possui uma camada uniforme e um conjunto de características superficiais e morfológicas que conferem a este híbrido, resistência química e propriedades de barreira física.

O conjunto de propriedades estruturais, morfológicas e eletroquímicas apresentadas pelo revestimento CC0 comprovam a eficiência no processo de formação do revestimento híbrido em função da interação entre as fases orgânica e inorgânica dos precursores MMA e TEOS por meio do agente compatibilizante MPTS [20,21].

Apesar do revestimento CC0 apresentar boa reticulação no revestimento híbrido após o período de 72 e 168 horas de imersão, foi observada a diminuição de forma gradativa do fenômeno de alta frequência, o que pode estar associado à permeabilidade do eletrólito por meio do filme. Isto ocorre devido a pequenas descontinuidades formadas na superfície do revestimento, conforme observado pela técnica de MEV-EDS (Figura 15). Em outros estudos eletroquímicos realizados com filmes híbridos a base de silanos, também foi verificado que a constante de tempo em alta frequência foi reduzida gradativamente, ou até mesmo não identificada quando os substratos revestidos foram imersos por um longo período de tempo em solução salina. Este fenômeno foi associado a presença de micro poros que possibilitaram a passagem do eletrólito, não atuando como uma barreira hermética [3,20,21].

Assim como o revestimento CC0, os híbridos com adição do cloreto de cálcio em sua composição, CC1 e CC2, também apresentaram outros fenômenos para a primeira hora de imersão em SBF. O revestimento híbrido CC2 apresentou 2 fenômenos, de média pra baixa frequência e o segundo em alta frequência, comprovando desta forma a eficiência e proteção de barreira do filme sol-gel para este tempo de imersão. Tal fenômeno ocorreu devido a formação da rede de sílica apresentada por todos os revestimentos e comprovada nos ensaios estruturais de FTIR (Figura 9).

Entretanto, o híbrido CC1 apresentou fenômenos acoplados para a primeira hora de imersão em SBF, os quais não foram possíveis distinguir devido a instabilidade do revestimento na primeira hora de imersão em SBF. Acredita-se que durante este curto intervalo de tempo, a superfície do revestimento ainda estava sendo molhada. Outros autores também verificaram este acoplamento de fenômenos para revestimentos híbridos Siloxano-PMMA nas primeiras horas de imersão em solução salina e associaram esta instabilidade do sistema à interação do eletrólito com o filme, como por exemplo durante a permeação por meio do filme, que não é um processo instantâneo [20,98].

Após 24 horas de imersão em SBF (Figura 21 (b)), os revestimentos híbridos, CC1 e CC2 não apresentaram o fenômeno em alta frequência associado a proteção barreira do filme híbrido. Apesar da presença da rede de sílica na composição dos revestimentos, esta não foi suficientemente densa para impedir a passagem do eletrólito pela superfície, comprovando desta maneira a presença de irregularidades, as quais estabelecem "caminhos" condutores que permitem o acesso da solução contendo o agente agressivo (SBF) ao substrato metálico. Irregularidades estas que foram identificadas nos ensaios de MEV (Figura 15 (c) e (d)) e nos mapas EDS (Figuras 16 e 17).

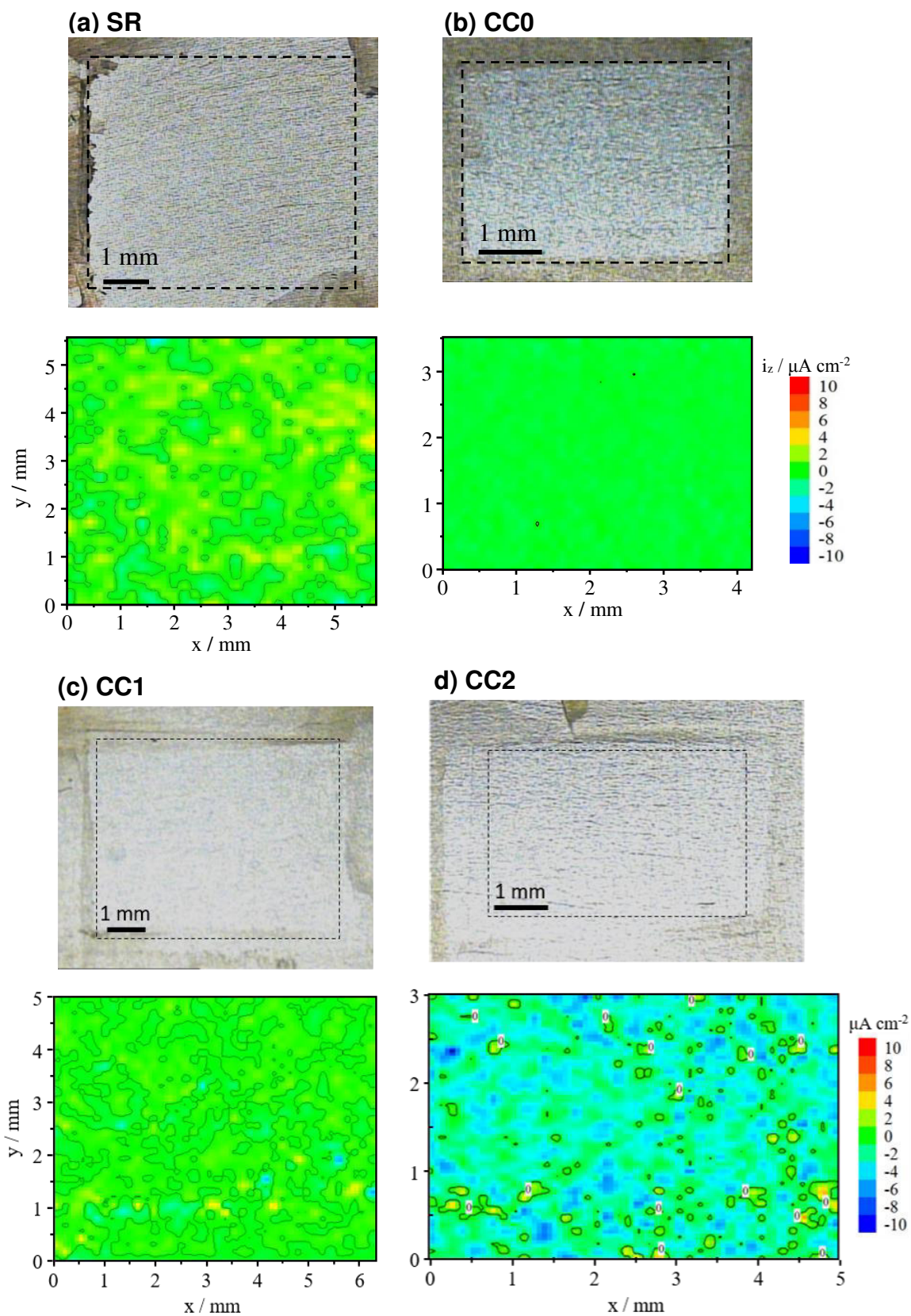
O comportamento menos resistivo para os revestimentos híbridos CC1 e CC2 comparativamente ao CC0 era esperado ao considerar a molhabilidade superficial. A molhabilidade do revestimento é um parâmetro diretamente relacionado a capacidade resistiva do filme, e para o filme sol-gel, está intimamente associada a camada de sílica reticulada. Dentre os híbridos produzidos, o revestimento CC0 foi o que apresentou caráter menos hidrofílico, ou seja, apresentou maior grau de condensação dos grupos OH. Logo, acredita-

se a partir desses resultados que o sistema sem adição de cloreto de cálcio CC0, torna-se mais atrativo para aplicações anticorrosivas tendo em vista a maior compactação da rede Si-O-Si e como consequência, resistência à corrosão em solução SBF por um intervalo de tempo superior ao apresentado pelos revestimentos CC1 e CC2.

Neste trabalho buscou-se produzir um revestimento que apresente um equilíbrio entre as propriedades biológicas e anticorrosivas e que possua elementos promotores de biocompatibilidade e bioatividade sem comprometer a resistência à corrosão [2,98].

Informações complementares aos ensaios de EIE podem ser obtidas por técnicas como o SVET, que fornece a distribuição e magnitude das atividades anódicas e catódicas nos processos corrosivos das superfícies [78,99]. A Figura 22 mostra imagens superficiais e mapas SVET da liga sem revestimento, SR (a) e das superfícies metálicas revestidas com os híbridos CC0 (b), CC1 (c) e CC2 (d), imersas em solução SBF a 37 °C por 24 horas.

Figura 22 – Imagens superficiais e mapas SVET da (a) liga sem revestimento (SR) e dos revestimentos híbridos (b) CC0, (c) CC1 e (d) CC2 após 24 horas de imersão em SBF a 37 °C.



Os respectivos mapas representados na Figura 22, indicaram que não foi possível detectar por SVET a corrosão instantânea nas superfícies ou quaisquer sinais de corrosão. As superfícies apresentaram em toda a extensão uma coloração verde correspondente a corrente zero. Como mencionado anteriormente, a liga biomédica apresenta uma camada de óxido passiva na superfície, deste modo, sua taxa de corrosão é extremamente lenta, não sendo possível detectar os processos de corrosão instantâneos e visualizar nos mapas SVET das superfícies a coloração azul correspondente as correntes negativas (cátodo) e a coloração vermelha referente as correntes positivas (ânodo).

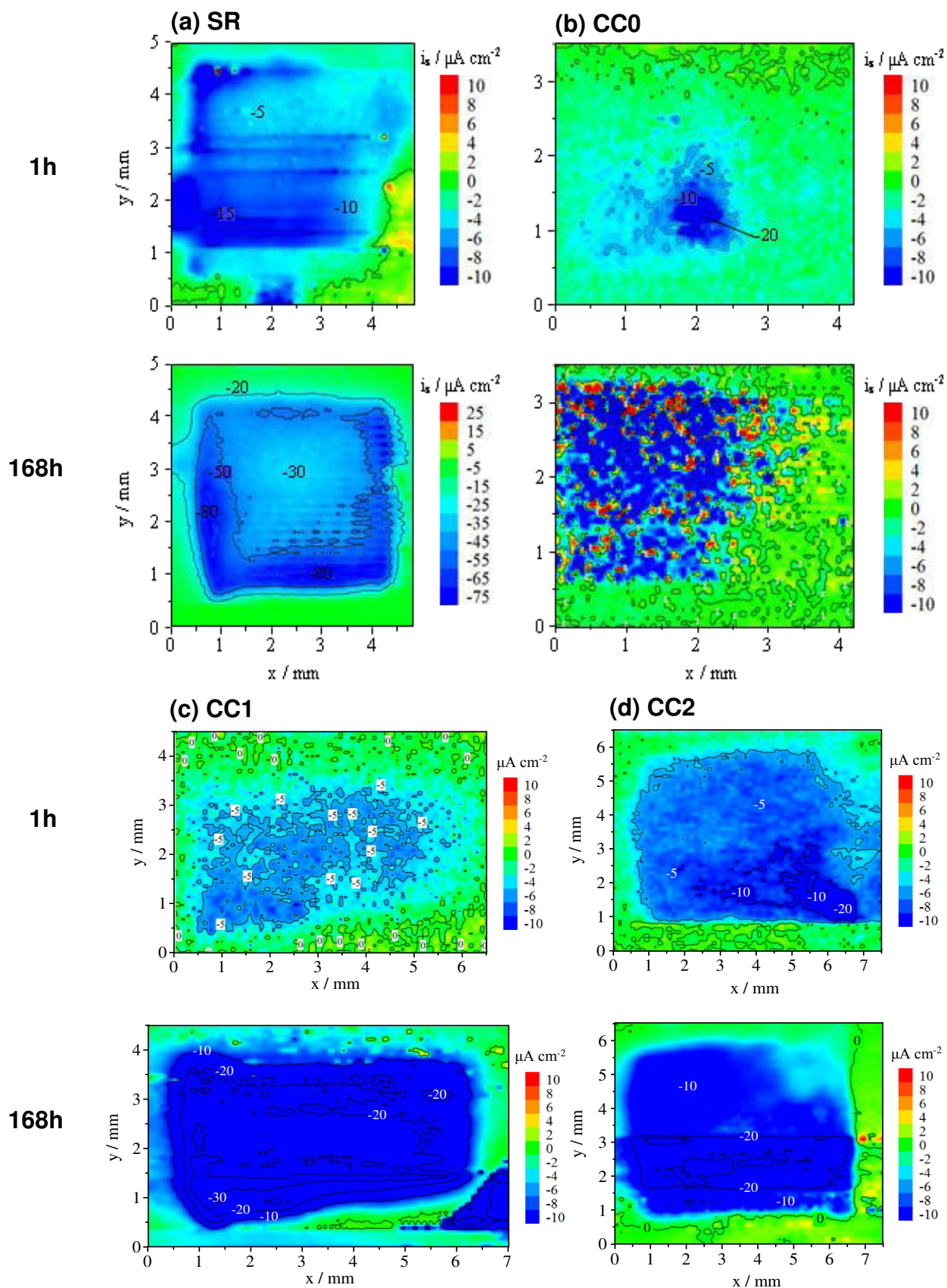
Logo, estes resultados mostraram que em um sistema sem polarização (no potencial de circuito aberto) não há corrosão apreciável da superfície da liga sem revestimento (SR). Nenhuma diferença nas superfícies revestidas e não revestidas foi observada por SVET, não foram detectados fenômenos nem mesmo para os revestimentos que apresentaram maiores discontinuidades.

Partindo do pressuposto de avaliar a qualidade dos filmes depositados, optou-se por polarizar as amostras em um potencial em que a corrente pudesse passar através do filme e ser detectada na solução eletrolítica pela SVET.

Com o objetivo de visualizar a passagem dos processos de sinal através do filme, as superfícies SR, CC0, CC1 e CC2 foram investigadas por um sistema SVET acoplado a um potenciostato. Os sistemas foram perturbados ao aplicar um potencial -1,2 Volts vs Ag/AgCl e os mapas obtidos nos ensaios são mostrados na Figura 23, para 1 hora de imersão e 168 horas de imersão em SBF a 37°C.

Os mapas SVET apresentados na Figura 23 para uma hora de imersão indicaram que todos revestimentos híbridos criaram uma camada protetora sobre o substrato SR, de modo que a coloração esverdeada (corrente zero) apresentada nas superfícies comprovaram a eficiência do revestimento sol-gel depositado, assim como revelaram os resultados de impedância eletroquímica.

Figura 23: Mapas SVET medidos durante a polarização da (a) liga sem revestimento (SR) e da liga revestida com os híbridos (b) CC0, (c) CC1 e (d) CC2 em um potencial de $-1.2\text{V vs Ag|AgCl|}0.05\text{M NaCl}$, após (a) 1 hora e 168 horas de imersão em SBF a 37°C .



Vale ressaltar que dentre os revestimentos estudados, para o tempo de imersão de 1 hora, o CC0 foi o que apresentou a coloração verde na maior parte da superfície do mapa, sendo que apenas na região central a coloração azul referente as atividades catódicas foram detectadas. Este resultado revela que a região central possui microrugosidades que permitem a passagem do eletrólito pelo revestimento.

Com relação aos revestimentos CC1 e CC2, estes apresentaram uma área central de atividade catódica superior a mostrada pelo revestimento CC0, o que comprova a presença de maiores discontinuidades na superfície dos revestimentos com adição do sal de cálcio, conforme discutido na sessão de caracterização morfológica nos ensaios de MEV e EDS.

Com o tempo de exposição de 168 horas em solução biológica, a intensidade de correntes catódicas nos mapas SVET aumentou consideravelmente, tanto para a liga SR, quanto para os revestimentos, CC0, CC1 e CC2. Os sistemas perturbados indicaram que os filmes apresentaram pequenas deformações, microporos por toda a sua extensão, não apenas em regiões pontuais. No entanto, para este tempo de imersão o sistema CC0 sem concentração de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ foi o que apresentou menores correntes catódicas (sistema menos azulado), demonstrando deste modo um comportamento mais protetor, resultado este que corrobora com os obtidos nos ensaios de impedância eletroquímica (Figura 21). Assim sendo, os resultados indicaram que para o sistema perturbado, a medida que é acrescida a razão molar do sal de cálcio na composição, menos resistivo é o revestimento.

CAPÍTULO 6

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudo das Propriedades Biológicas

6.1 Introdução

Neste capítulo serão apresentados os ensaios *in vitro* realizados para as superfícies metálicas, não revestida (SR) e revestida com os híbridos CC0 e CC2. Baseados no conjunto de resultados, morfológicos e eletroquímicos apresentados para os revestimentos CC1 e CC2, optou-se por utilizar apenas o revestimento CC2 nestes ensaios. No presente estudo, as superfícies foram avaliadas quanto a bioatividade *in vitro*, viabilidade, densidade e citotoxicidade de células pré-osteoblastos.

6.2 Estudo da Bioatividade das Superfícies

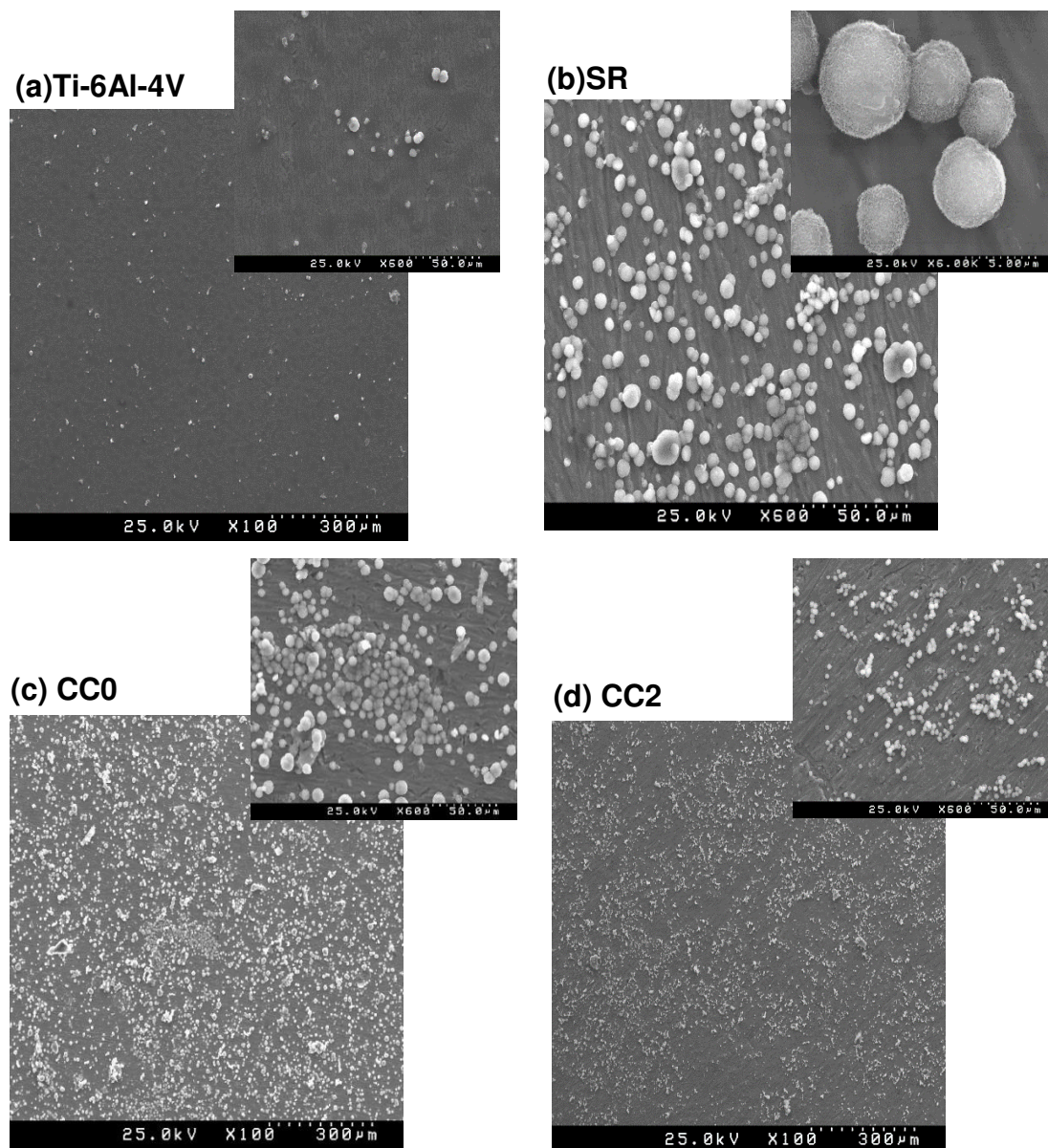
Na Figura 24 são apresentadas imagens obtidas por MEV para os sistemas (a) Liga Ti-6Al-4V, (b) Liga SR, (c) CC0 e (d) CC2 após 40 dias de imersão SBF à 37 °C. Foram avaliados nos ensaios de bioatividade *in vitro*, a formação de sais de hidroxiapatita (HA): $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ (importante biomaterial utilizado para fins dentários e ortopédicos devido as suas propriedades osteocondutoras e bioativas) nas superfícies revestidas e não revestidas com os híbridos e também na superfície da liga Ti-6Al-4V sem tratamento superficial, como fornecida pela empresa [10,62,96].

A HA tem sido utilizada para estudo de biomineralização em diferentes tipos de materiais, e a capacidade de formação da hidroxiapatita em superfícies tem sido correlacionada com a bioatividade apresentada *in vivo*, logo, a capacidade de ligação óssea de um determinado material pode ser prevista a partir da formação de HA na superfície quando submetida a este tipo de teste [96,97].

Os testes de bioatividade *in vitro* para a liga Ti-6Al-4V, sem tratamento superficial foi realizado a fim de avaliar comparativamente à liga SR (tratada superficialmente), o efeito do pré-tratamento superficial no processo de mineralização de sais de hidroxiapatita. Foi observado nas imagens das superfícies na Figura 24, (a) Ti-6Al-4V e (b) SR uma diferença relevante na mineralização e distribuição dos sais HA formados para as duas superfícies metálicas.

A formação de sais de hidroxiapatita na superfície da liga Ti-6Al-4V foi notavelmente inferior a quantidade encontrada na superfície da liga SR. Desta forma, foi verificado que o pré-tratamento mecânico e químico (ácido) realizado na superfície da liga metálica contribuiu para uma maior formação de sais de hidroxiapatita durante os ensaios de bioatividade *in vitro* [98,99]. O tratamento superficial com ácido é frequentemente utilizado para produzir superfícies limpas e uniformes, eliminando a camada de óxido e a contaminação. O ácido clorídrico é considerado um excelente descontaminante e pode facilmente dissolver sais de titânio quando comparado a ação do persulfato de sódio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_8$) e ácido sulfúrico [75].

Figura 24 - Imagens obtidas por MEV para os sistemas (a) Liga Ti-6Al-4V, (b) Liga SR, (c) CC0 e CC2 em imersão por 40 dias em SBF à 37 °C.



Diante disso, os resultados indicaram que a remoção da camada de óxido da superfície metálica além de facilitar o processo de aderência dos revestimentos híbridos, tornou o substrato mais ativo para aplicações biológicas [39]. Com a superfície bioativada há um favorecimento do ambiente para a fixação do implante no osso e melhora da estabilização a longo prazo [75].

A formação de sais de hidroxiapatita nas superfícies, SR (Figura 24 (b)), CC0 (Figura 24 (c)) e CC2 (Figura 24 (d)) era esperado ao considerar os resultados apresentados nos ensaios de ângulo de contato (Figura 19), em que a

molhabilidade das superfícies foi determinada, e estas foram avaliadas como hidrofílicas, porém com diferentes graus de hidrofílicidade. O tempo de 40 dias em que os revestimentos foram imersos em SBF à 37 °C favoreceu a distribuição uniforme de HA na extensão superficial das superfícies [17]. Como pode ser observado nas imagens, os sais de hidroxiapatita apresentaram formato esférico, conforme encontrado por outros autores ao fazerem imersão das superfícies metálicas revestidas com filmes sol-gel em SBF [96,100,101].

Apesar da distribuição das esferas de hidroxiapatita pela extensão das superfícies, foi observado nas imagens de MEV (Figura 24) aglomerados de partículas de sais de hidroxiapatita em algumas zonas, provavelmente geradas a partir das rugosidades presentes nas superfícies observada na caracterização por AFM (Figura 20) e confirmadas previamente por MEV e EDS.

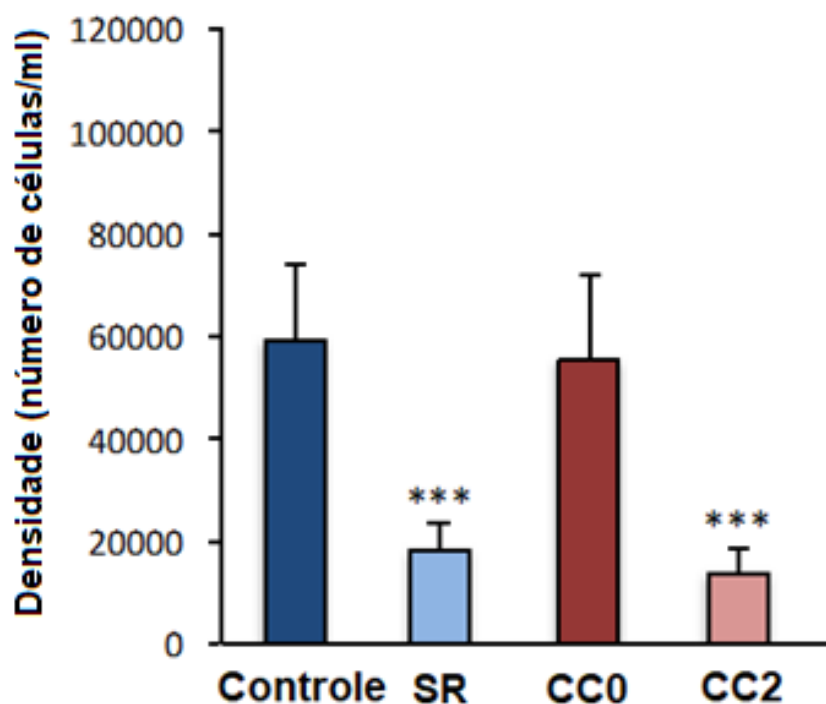
Para estes ensaios de bioatividade não foi realizada a quantificação de sais de hidroxiapatita formados nas superfícies, não revestida (SR) e revestidas, CC0 e CC2. No entanto, vários estudos mostraram que revestimentos a base de sílica facilitam a formação de esferulites de hidroxiapatita [7,80,97]. Durante a etapa de imersão das ligas revestidas em SBF à 37 °C ocorre o processo de hidratação e dissolução da rede de sílica de forma lenta em pH fisiológico 7,4, com isto a degradação da rede de sílica forma grupos silanóis, o que possibilita sítios propícios a nucleação da apatita [101]. Além desses processos de hidratação e dissolução da rede de sílica, os estudos estruturais dos híbridos CC0 e CC2 comprovaram a existência de grupos OH não condensados nas estruturas, o que contribui de maneira positiva para a formação destes sais nas superfícies dos filmes sol-gel.

6.3 Estudo da Densidade e Viabilidade Celular nas Superfícies

Na Figura 26 é apresentado os resultados de densidade celular (número de células viáveis por mL) das células pré-osteoblásticas MC3T3-E1 cultivadas durante o período 24 horas para os substratos sem revestimento SR e para os revestimentos híbridos, CC0 e CC2. Os resultados indicaram que comparativamente ao meio de controle, foi observada uma diferença significativa no grau de densidade celular para as superfícies SR e CC2 em um intervalo de

confiança de $p < 0,005$, enquanto para o revestimento híbrido sem adição do cloreto de cálcio (CC0) o número de células viáveis é similar ao apresentado pelo grupo de controle.

Figura 25 - Densidade das células MC3T3-E1 expressa em números de células/ml sobre a liga SR, e nos revestimentos híbridos CC0 e CC2.



Diversos fatores como, a topografia (incluindo rugosidade e morfologia do material), química de superfície (presença ou ausência de grupos químicos) e energia de superfície (molhabilidade do material) podem favorecer esse processo de interação entre as células e a superfície do material [6]. O menor número de células vivas para a liga tratada superficialmente (SR) pode ser associado ao comportamento instável da superfície ocasionada pela formação de uma camada de óxido quando exposta a ambientes corrosivos [6].

Os resultados de densidade celular para o revestimento com adição do cloreto de cálcio CC2 se assemelham aos apresentados pela liga SR. Possivelmente as microrugosidades presentes no revestimento híbrido tenham inibido a proliferação destas células. Logo, dentre as superfícies estudadas o revestimento CC0 apresentou a maior porcentagem de células MC3T3-E1 vivas

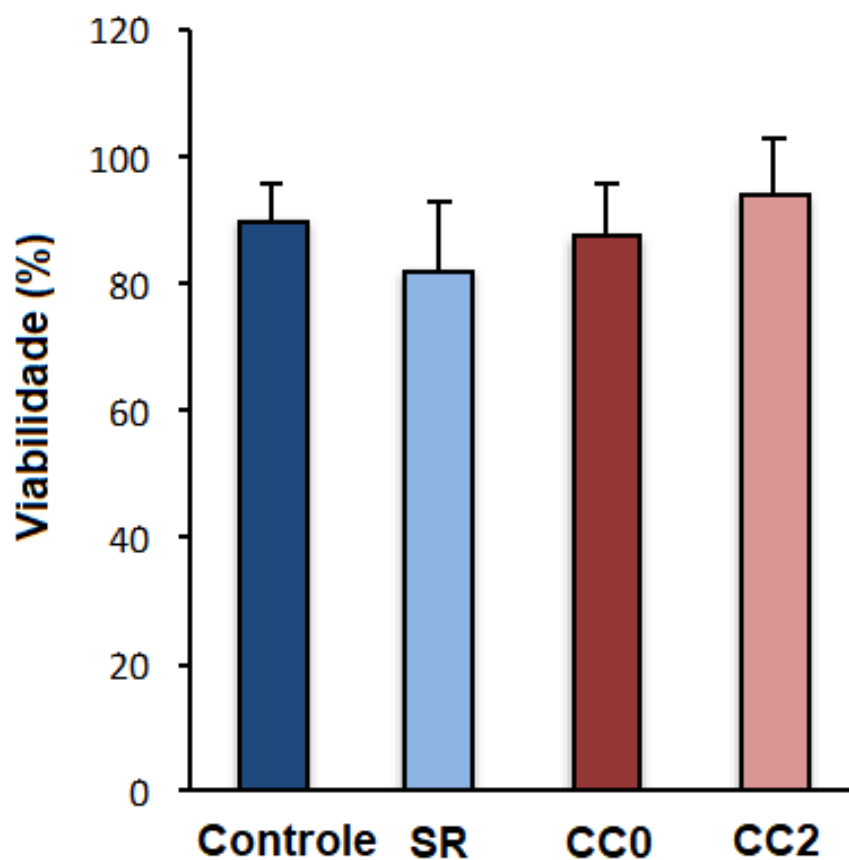
na superfície. As caracterizações superficiais (MEV, EDS e ângulo de contato) realizadas previamente comprovaram que o revestimento híbrido CC0, formou um filme silano de estrutura rígida, homogêneo e com poucas irregularidades, o que deve ter contribuído para um aumento da densidade celular [7].

Diante disso, o revestimento híbrido CC0 torna-se uma alternativa atrativa para a aplicações biomédicas, ao considerar que este revestimento apresentou dentre os outros substratos o maior número de células viáveis, bem como nos ensaios eletroquímicos apresentou o maior caráter anticorrosivo quando imerso em solução SBF durante 168 horas.

Na Figura 26 são apresentados os resultados obtidos para o teste de viabilidade celular durante o período de 24 horas. Os valores indicaram similaridade na porcentagem de células viáveis para todas as superfícies estudadas SR, CC0 e CC2 comparativamente ao grupo controle.

No entanto vale ressaltar que os resultados de viabilidade das células MC3T3-E1 foi ligeiramente superior para os revestimentos híbridos CC0 e CC2, comparativamente ao apresentado pela liga sem revestimento SR. Portanto, os resultados indicam que a presença dos revestimentos híbridos melhoram a biocompatibilidade da liga metálica e este aumento torna-se mais expressivo para o revestimento com maior concentração de cálcio (CC2) confirmando que a presença do sal favorece a biocompatibilidade. É interessante destacar que os altos valores de viabilidade para todos os substratos não induzem danos as células, mantendo a integridade celular.

Figura 26 - Viabilidade das células MC3T3-E1 expressa em porcentagem sobre a liga SR, e nos revestimentos híbridos CC0 e CC2.

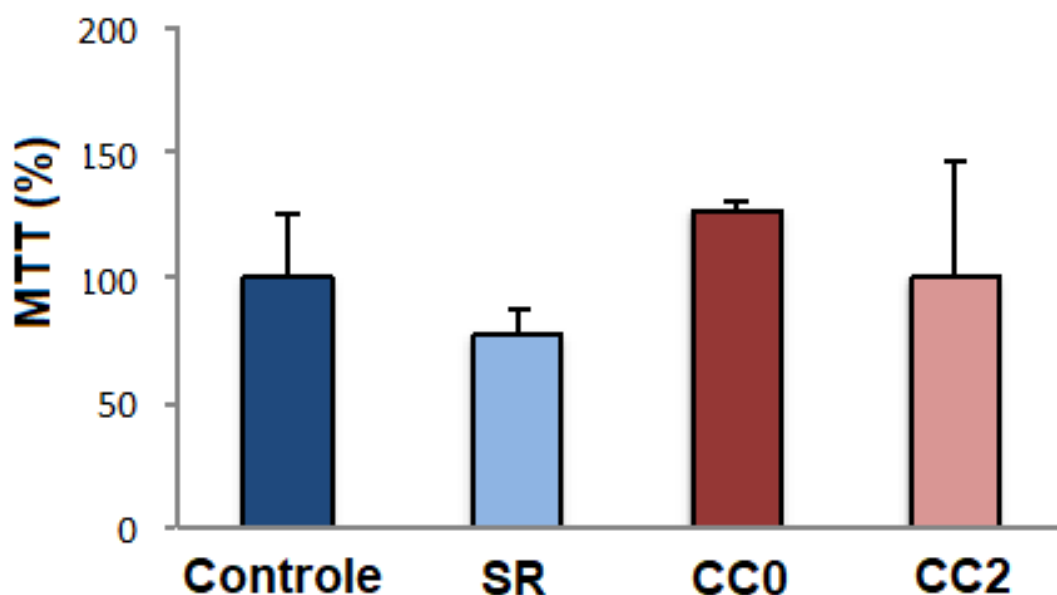


Os resultados de viabilidade celular obtidos neste trabalho são semelhantes aos encontrados por Jun e colaboradores [7]. No referido estudo foi avaliada a biocompatibilidade e bioatividade de revestimentos de matriz híbrida com diferentes porcentagens de quitosana (10, 20 e 30%) na formulação por meio do cultivo de células da linhagem MC3T3-E1 e os resultados apresentados apontaram melhora na viabilidade de todos os revestimentos híbridos comparativamente a liga de Titânio puro (Ti).

6.4 Estudo da Citotoxicidade das Superfícies

Os substratos estudados também foram expostos ao teste de atividade mitocondrial (MTT), um ensaio calorimétrico que avalia a viabilidade celular em estudos de proliferação e citotoxicidade durante o período de 24 horas. Os resultados apresentados na Figura 28 expressam em porcentagem a capacidade metabólica das mitocrôndias e representam a quantidade de organelas presentes nos substratos, a partir da absorbância em 570 nm.

Figura 27 - Ensaio de citotoxicidade por teste de atividade mitocondrial (MTT) em 24h expressa em porcentagem para a liga SR e os revestimentos híbridos CC0 e CC2.



Após a análise estatística para um intervalo de confiança de 95%, com $p < 0,05$, todos os substratos apresentaram células viáveis, comparativamente ao grupo controle. Nenhuma das superfícies estudadas apresentaram efeito citotóxico, no entanto, vale ressaltar que o revestimento híbrido CC0 apresentou atividade mitocondrial superior a 100%, superior ao apresentado pelo grupo controle, ressaltando o caráter biocompatível existente no filme híbrido para esta composição.

Outros estudos de toxicidade em materiais híbridos comprovaram o efeito não tóxico desses materiais e a sua biocompatibilidade celular. Shirosak e colaboradores desenvolveram híbridos a base de quitosana/sílica e assim como neste trabalho, foi avaliada a adição de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ na matriz híbrida, e os resultados revelaram alta citocompatibilidade entre todos os materiais híbridos e as células semelhantes à osteoblastos da linhagem MG63 [80].

Em um outro estudo, realizado por Catauro e colaboradores, os ensaios de citocompatibilidade para o revestimento orgânico-inorgânico a base de zircônia e polietilenoglicol sintetizados via processo sol gel e depositados sobre a liga de titânio também revelaram uma boa interação entre os revestimentos e as células embrionárias de fibroblastos de camundongo da linhagem NIH 3T3, comprovando desta forma a biocompatibilidade dos sistemas híbridos [10].

Baseados nos resultados apresentados e embasados na literatura, que foram mostrados neste capítulo, acredita-se que os sistemas híbridos Siloxano-PMMA aplicados a ligas Ti-6Al-4V são viáveis para aplicações biomédicas, pois apresentam propriedades biocompatíveis e bioativas.

CAPÍTULO 7

CONCLUSÃO E PERSPECTIVAS

7.1 Conclusão

O método Sol-Gel mostrou-se eficiente para o desenvolvimento de revestimentos híbridos protetivos aplicados a liga biomédica Ti-6Al-4V. A adição $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ influenciou nas reações de polimerização, hidrólise e condensação.

Os revestimentos apresentaram espessura na ordem de $1\mu\text{m}$, homogeneidade e aderência ao substrato. Com a adição do sal houve o favorecimento de microrugosidades. Os revestimentos apresentaram hidrofiliabilidade, sendo atrativos para aplicações biológicas e foi comprovado pelos ensaios de rugosidade que a deposição do filme sol-gel diminuiu a rugosidade da liga tratada superficialmente. Dentre os híbridos produzidos, o CC0 foi o que apresentou uma rede de sílica mais compacta, com menores imperfeições nas superfícies.

Todos os revestimentos híbridos demonstraram caráter protetivo nas primeiras horas de imersão, no entanto, apenas o híbrido sem adição de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (CC0) mostrou-se mais resistente há 168 horas de imersão em SBF. Os ensaios SVET comprovaram a passividade dos filmes sol-gel depositado e identificaram as microrugosidades presente nos revestimentos.

Os ensaios *in vitro* em SBF possibilitou estudar a bioatividade entre das superfícies por meio da formação de espécies similares a esferas de hidroxiapatita para as ligas tratada (SR) e para as superfícies revestidas com os filmes híbridos (CC0 e CC2), principalmente na superfície do revestimento CC0.

Os testes celulares realizados com células da linhagem MC3T3-E1 indicaram uma maior densidade de células para o revestimento híbrido CC0. Para os testes de viabilidade celular não houve mudanças significativas entre os substratos estudados comparativamente ao grupo de controle, contudo, a liga SR apresentou menores valores de porcentagem de viabilidade, que os demais sistemas estudados, CC0 e CC2. Os testes de atividade mitocondrial indicaram que todos os substratos não apresentaram efeito citotóxico, entretanto, maiores valores foram encontrados para os híbridos desenvolvidos.

Os ensaios biológicos permitiram concluir em combinação com as caracterizações realizadas anteriormente de superfície, morfológica e eletroquímica que os revestimentos híbridos apresentam propriedades superiores a liga SR, tanto biologicamente quanto no campo anticorrosivo, além

de possibilitar a determinação de um revestimento com uma composição ótima (CC0) que atende as diferentes aplicações, pois possui características bioativas e anticorrosivas.

7.2 Perspectivas do Trabalho

- Analisar os resultados estruturais, morfológicos e eletroquímicos para o sistema híbrido com outro monômero, o Metacrilato de hidroxietila (HEMA) e comparar com os resultados já obtidos para o sistema com o MMA.
- Realizar os ensaios biológicos: viabilidade; proliferação (com fotos de microscopia óptica (MO), produção e detecção de espécies reativas de Oxigênio (ROS) e diferenciação celular para os dois sistemas de revestimentos híbridos, com o monômero MMA e HEMA e comparar os resultados.

8. Referências Bibliográficas

- [1] . Niinomi, Biologically and Mechanically Biocompatible Titanium Alloys, *Mater. Trans.* 49 (2008) 2170–2178. doi:10.2320/matertrans.l-mra2008828.
- [2] N.S. Manam, W.S.W. Harun, D.N.A. Shri, S.A.C. Ghani, T. Kurniawan, M.H. Ismail, M.H.I. Ibrahim, Study of corrosion in biocompatible metals for implants: A review, *J. Alloys Compd.* 701 (2017) 698–715. doi:10.1016/j.jallcom.2017.01.196.
- [3] D.G. Salvador, P. Marcolin, L.V.R. Beltrami, R.N. Brandalise, S.R. Kunst, Development of Alkoxide Precursors-Based Hybrid Coatings on Ti-6Al-4V Alloy for Biomedical Applications: Influence of pH of Sol, *J. Mater. Eng. Perform.* 27 (2018) 2863–2874. doi:10.1007/s11665-018-3368-9.
- [4] Y. Yan, E. Chibowski, A. Szcześ, Surface properties of Ti-6Al-4V alloy part I: Surface roughness and apparent surface free energy, *Mater. Sci. Eng. C.* 70 (2017) 207–215. doi:10.1016/j.msec.2016.08.080.
- [5] Q. Chen, G.A. Thouas, Metallic implant biomaterials, *Mater. Sci. Eng. R.* 87 (2015) 1–57. doi:10.1016/j.mser.2014.10.001.
- [6] F. Zivic, S. Affatato, M. Trajanovic, M. Schnabelrauch, N. Grujovic, K.L. Choy, eds., *Biomaterials in Clinical Practice*, 1st ed., Springer International Publishing, 2018.
- [7] S.H. Jun, E.J. Lee, S.W. Yook, H.E. Kim, H.W. Kim, Y.H. Koh, A bioactive coating of a silica xerogel/chitosan hybrid on titanium by a M room temperature sol-gel process, *Acta Biomater.* 6 (2010) 302–307. doi:10.1016/j.actbio.2009.06.024.
- [8] M. Niinomi, Mechanical properties of biomedical titanium alloys, *Mater. Sci. Eng. A243.* 243 (1998) 231–236. doi:10.1016/S0921-5093(97)00806-X.
- [9] M. Catauro, F. Bollino, F. Papale, R. Giovanardi, P. Veronesi, Corrosion behavior and mechanical properties of bioactive sol-gel coatings on titanium implants, *Mater. Sci. Eng. C.* 43 (2014) 375–382.

doi:10.1016/j.msec.2014.07.044.

- [10] M. Catauro, F. Bollino, F. Papale, Biocompatibility improvement of titanium implants by coating with hybrid materials synthesized by sol-gel technique, *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*. 102 (2014) 4473–4479. doi:10.1002/jbm.a.35116.
- [11] R. Ravarian, X. Zhong, M. Barbeck, S. Ghanaati, C.J. Kirkpatrick, C.M. Murphy, A. Schindeler, W. Chrzanowski, F. Dehghani, Nanoscale chemical interaction enhances the physical properties of bioglass composites, *ACS Nano*. 7 (2013) 8469–8483. doi:10.1021/nn402157n.
- [12] E.K.K. Baldin, S.R. Kunst, L.V.R. Beltrami, T.M. Lemos, M.C. Quevedo, A.C. Bastos, M.G.S. Ferreira, P.R.R. Santos, V.H.V. Sarmiento, C.D.F. Malfatti, Ammonium molybdate added in hybrid films applied on tinplate: Effect of the concentration in the corrosion inhibition action, *Thin Solid Films*. 600 (2016) 146–156. doi:10.1016/j.tsf.2016.01.034.
- [13] A. Alcantara-Garcia, A. Garcia-Casas, A. Jimenez-Morales, Electrochemical study of the synergic effect of phosphorus and cerium additions on a sol-gel coating for Titanium manufactured by powder metallurgy, *Prog. Org. Coatings*. 124 (2018) 267–274. doi:10.1016/j.porgcoat.2018.01.026.
- [14] M. Catauro, F. Bollino, F. Papale, Surface modifications of titanium implants by coating with bioactive and biocompatible poly (ϵ -caprolactone)/SiO₂ hybrids synthesized via sol–gel, *Arab. J. Chem.* 11 (2015) 1126–1133. doi:10.1016/j.arabjc.2015.02.010.
- [15] F.A. De Jesus, B.V. Santana, J.M.A. Caiut, V.H.V. Sarmiento, Local Coordination, Influence on Synthesis and Luminescent Features of Eu³⁺ Ions in SiO₂-Poly(methyl methacrylate) Hybrid Materials, *Ind. Eng. Chem. Res.* 57 (2018) 3941–3949. doi:10.1021/acs.iecr.7b05208.
- [16] H.W.P. Carvalho, A.F. Suzana, C.V. Santilli, S.H. Pulcinelli, Structure and thermal behavior of PMMA-polysilsesquioxane organic-inorganic hybrids, *Polym. Degrad. Stab.* 104 (2014) 112–119. doi:10.1016/j.polymdegradstab.2014.03.031.

- [17] V. Rodríguez Lugo, V.M. Castaño, E. Rubio-Rosas, Biomimetic growth of hydroxylapatite on SiO₂–PMMA hybrid coatings, *Mater. Lett.* 184 (2016) 265–268. doi:10.1016/j.matlet.2016.08.068.
- [18] J.M. Yeh, C.J. Weng, W.J. Liao, Y.W. Mau, Anticorrosively enhanced PMMA-SiO₂ hybrid coatings prepared from the sol-gel approach with MSMA as the coupling agent, *Surf. Coatings Technol.* 201 (2006) 1788–1795. doi:10.1016/j.surfcoat.2006.03.011.
- [19] V.H. V Sarmiento, M.G. Schiavetto, P. Hammer, A. V. Benedetti, C.S. Fugivara, P.H. Suegama, S.H. Pulcinelli, C. V. Santilli, Corrosion protection of stainless steel by polysiloxane hybrid coatings prepared using the sol-gel process, *Surf. Coatings Technol.* 204 (2010) 2689–2701. doi:10.1016/j.surfcoat.2010.02.022.
- [20] S.R. Kunst, H.R.P. Cardoso, C.T. Oliveira, J.A. Santana, V.H.V. Sarmiento, I.L. Muller, C.F. Malfatti, Corrosion resistance of siloxane-poly(methyl methacrylate) hybrid films modified with acetic acid on tin plate substrates: Influence of tetraethoxysilane addition, *Appl. Surf. Sci.* 298 (2014) 1–11. doi:10.1016/j.apsusc.2013.09.182.
- [21] A.F. Suzana, E.A. Ferreira, A. V. Benedetti, H.W.P. Carvalho, C. V. Santilli, S.H. Pulcinelli, Corrosion protection of chromium-coated steel by hybrid sol-gel coatings, *Surf. Coatings Technol.* (2016). doi:10.1016/j.surfcoat.2016.04.075.
- [22] A. Tathe, M. Ghodke, A.P. Nikalje, A Brief Review : biomaterials and their application, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.* 2 (2010) 19–23.
- [23] L.L. Hench, Biomaterials, *Science* (80-.). 208 (1980) 826–831.
- [24] A.J. Salinas, M. Vallet-Regi, Bioactive ceramics: from bone grafts to tissue engineering, *RSC Adv.* 28 (2013) 1116–1131.
- [25] H.R. Rezaie, L. Bakhtiari, A. Öchsner, Biomaterials and Their Applications, 1st ed., SPRINGER BRIEFS IN MATERIALS, 2015. <http://www.springer.com/series/10111>.
- [26] K. Tappa, U. Jammalamadaka, Novel Biomaterials Used in Medical 3D

- Printing Techniques, J. Funtional Biomater. (2018).
doi:10.3390/jfb9010017.
- [27] A.A. El Hadad, E. Peón, F.R. García-Galván, V. Barranco, J. Parra, A. Jiménez-Morales, J.C. Galván, Biocompatibility and corrosion protection behaviour of hydroxyapatite sol-gel-derived coatings on Ti6Al4V alloy, *Materials* (Basel). 10 (2017) 1–25. doi:10.3390/ma10020094.
 - [28] S.L. Aktuğ, S. Durdu, E. Yalçın, K. Çavuşoğlu, M. Usta, Bioactivity and biocompatibility of hydroxyapatite-based bioceramic coatings on zirconium by plasma electrolytic oxidation, *Mater. Sci. Eng. C*. 71 (2017) 1020–1027. doi:10.1016/j.msec.2016.11.012.
 - [29] J. Black, The education of the biomaterialist: Report of a survey, 1980–81, *J. Biomed. Mater. Res.* 16 (1982) 159–167.
doi:10.1002/jbm.820160208.
 - [30] T. Miyazaki, C. Ohtsuki, M. Kyomoto, M. Tanihara, A. Mori, K.I. Kuramoto, Bioactive PMMA bone cement prepared by modification with methacryloxypropyltrimethoxysilane and calcium chloride, *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*. 67 (2003) 1417–1423. doi:10.1002/jbm.a.20042.
 - [31] J. Ballarre, P.M. Desimone, M. Chorro, M. Baca, J.C. Orellano, S.M. Céré, Bone quality around bioactive silica-based coated stainless steel implants: Analysis by Micro-Raman, XRF and XAS techniques, *J. Struct. Biol.* 184 (2013) 164–172. doi:10.1016/j.jsb.2013.09.016.
 - [32] E.M. Valliant, J.R. Jones, Softening bioactive glass for bone regeneration: Sol-gel hybrid materials, *Soft Matter*. 7 (2011) 5083–5095.
doi:10.1039/c0sm01348j.
 - [33] J.R. Jones, L.M. Ehrenfried, L.L. Hench, Optimising bioactive glass scaffolds for bone tissue engineering, *Biomaterials*. 27 (2006) 964–973.
doi:10.1016/j.biomaterials.2005.07.017.
 - [34] E.P. Avés, I.N. Bastos, M.S. Sader, J.C.L. Yurell, G.D.A. Soares, J.C.G. Sierra, G.F. Estévez, Hydroxyapatite coating by sol–gel on Ti–6Al–4V alloy as drug carrier, *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 20 (2009) 543–547.
doi:10.1007/s10856-008-3609-9.

- [35] T. Coan, G.S. Barroso, R.A.F. Machado, F.S. de Souza, A. Spinelli, G. Motz, A novel organic-inorganic PMMA/polysilazane hybrid polymer for corrosion protection, *Prog. Org. Coatings*. 89 (2015) 220–230. doi:10.1016/j.porgcoat.2015.09.011.
- [36] M. Niinomi, Mechanical biocompatibilities of titanium alloys for biomedical applications, *J. Mech. Behav. Biomed. Mater.* 1 (2008) 30–42. doi:10.1016/j.jmbbm.2007.07.001.
- [37] J.B. Kevin L. Ong, Scott Lovald, *ORTHOPAEDIC BIOMATERIALS AND PRACTICE IN RESEARCH, SECOND*, CRC Press, 2018.
- [38] M. Niinomi, T. Narushima, M. Nakai, B. Reactions, *Advances in Metallic Biomaterials*, 3rd ed., Springer, Berlin, Heidelberg, 2015.
- [39] C. Wen, ed., *Surface Coating and Modification of Metallic Biomaterials*, Woodhead Publishing, 2015.
- [40] G.M. Raghavendra, K. Varaprasad, T. Jayaramudu, *Biomaterials: Design, Development and Biomedical Applications*, in: *Nanotechnol. Appl. Tissue Eng.*, Elsevier Inc., Oxford, 2015: pp. 21–44. doi:10.1016/B978-0-323-32889-0.00002-9.
- [41] K. Szubert, J. Wojciechowski, J. Karasiewicz, H. Maciejewski, G. Lota, Corrosion protection of stainless steel by triethoxyoctylsilane and tetraethoxysilane, *Int. J. Electrochem. Sci.* 11 (2016) 8256–8269. doi:10.20964/2016.10.05.
- [42] X. Liu, Z. Yue, T. Romeo, J. Weber, T. Scheuermann, S. Moulton, G. Wallace, Biofunctionalized anti-corrosive silane coatings for magnesium alloys, *Acta Biomater.* 9 (2013) 8671–8677. doi:10.1016/j.actbio.2012.12.025.
- [43] C. Leyens, M. Peters, *Titanium and Titanium Alloys Edited by*, 1st ed., Wiley - VCH, Weinheim, Germany, 2003. doi:10.1002/3527602119.
- [44] E.A. Bel'skaya, E.Y. Kulyamina, Influence of aluminum and vanadium alloying elements on the resistivity of titanium, *High Temp.* 52 (2014) 192–197. doi:10.1134/s0018151x14020047.

- [45] Wei Sha and Savko Malinov, Titanium alloys : modelling of microstructure , properties and applications Related titles :, 2009.
- [46] X. Liu, P.K. Chu, C. Ding, Surface modification of titanium, titanium alloys, and related materials for biomedical applications, Mater. Sci. Eng. R Reports. 47 (2004) 49–121. doi:10.1016/j.mser.2004.11.001.
- [47] M. Metikoš-Huković, E. Tkalcec, A. Kwokal, J. Piljac, An in vitro study of Ti and Ti-alloys coated with sol-gel derived hydroxyapatite coatings, Surf. Coatings Technol. (2003). doi:10.1016/S0257-8972(02)00732-6.
- [48] N.A. Al-Mobarak, A.A. Al-Swayih, Development of Titanium Surgery Implants for Improving Osseointegration Through Formation of a Titanium Nanotube Layer, Int. J. Electrochem. Sci. 9 (2014) 32–45.
- [49] S. Nag, R. Banerjee, H.L. Fraser, Microstructural evolution and strengthening mechanisms in Ti – Nb – Zr – Ta , Ti – Mo – Zr – Fe and Ti – 15Mo biocompatible alloys, 25 (2005) 357–362. doi:10.1016/j.msec.2004.12.013.
- [50] D. Assis, S. Wolyneć, I. Costa, Corrosion characterization of titanium alloys by electrochemical techniques, 51 (2006) 1815–1819. doi:10.1016/j.electacta.2005.02.121.
- [51] A. Rodríguez-Cano, P. Cintas, M.C. Fernández-Calderón, M. ángel Pacha-Olivenza, L. Crespo, L. Saldaña, N. Vilaboa, M.L. González-Martín, R. Babiano, Controlled silanization-amination reactions on the Ti6Al4V surface for biomedical applications, Colloids Surfaces B Biointerfaces. 106 (2013) 248–257. doi:10.1016/j.colsurfb.2013.01.034.
- [52] B. Zhao, H. Wang, N. Qiao, C. Wang, M. Hu, Corrosion resistance characteristics of a Ti-6Al-4V alloy scaffold that is fabricated by electron beam melting and selective laser melting for implantation in vivo, Mater. Sci. Eng. C. 70 (2017) 832–841. doi:10.1016/j.msec.2016.07.045.
- [53] C. Sanchez, B. Julián, P. Belleville, M. Popall, Applications of hybrid organic-inorganic nanocomposites, J. Mater. Chem. 15 (2005) 3559–3592. doi:10.1039/b509097k.

- [54] F.A. De Jesus, S.T.S. Santos, J.M.A. Caiut, V.H.V. Sarmiento, Effects of thermal treatment on the structure and luminescent properties of Eu³⁺-doped SiO₂-PMMA hybrid nanocomposites prepared by a sol-gel process, *J. Lumin.* (2016). doi:10.1016/j.jlumin.2015.05.030.
- [55] G. Kickelbick, Introduction to Hybrid Materials, in: *Hybrid Mater. Charact. Appl.*, 2007: pp. 1–48.
- [56] J. Sun, E.K. Akdogan, L.C. Klein, A. Safari, Characterization and optical properties of sol-gel processed PMMA/SiO₂ hybrid monoliths, *J. Non. Cryst. Solids.* 353 (2007) 2807–2812. doi:10.1016/j.jnoncrysol.2007.05.158.
- [57] M. Jäger, A. Wilke, Comprehensive biocompatibility testing of a new PMMA-HA bone cement versus conventional PMMA cement in vitro, *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.* 14 (2003) 1283–1298. doi:10.1163/156856203322553491.
- [58] G. Kickelbick, *Hybrid materials : synthesis, characterization, and applications*, Wiley - VCH, 2007.
- [59] A. Kros, J.A. Jansen, S.J. Holder, R.J.M. Nolte, N.A.J.M. Sommerdijk, Silane-based hybrids for biomedical applications, *J. Adhes. Sci. Technol.* 16 (2002) 143–155. doi:10.1163/156856102317293678.
- [60] R.S. Hiratsuka, C.V. Santilli, S.H. Pulcinelli, O Processo Sol-Gel: Uma Visão Físico-Química, *Quim. Nova.* 18 (1995) 171–180.
- [61] R.B. Casagrande, S.R. Kunst, L.V.R. Beltrami, C. Aguzzoli, R.N. Brandalise, C. de Fraga Malfatti, Pretreatment effect of the pure titanium surface on hybrid coating adhesion based on tetraethoxysilane and methyltriethoxysilane, *J. Coatings Technol. Res.* (2018) 1–18. doi:10.1007/s11998-017-0035-2.
- [62] E. Mohseni, E. Zalnezhad, A.R. Bushroa, Comparative investigation on the adhesion of hydroxyapatite coating on Ti-6Al-4V implant: A review paper, *Int. J. Adhes. Adhes.* 48 (2014) 238–257. doi:10.1016/j.ijadhadh.2013.09.030.

- [63] D.G. Salvador, P. Marcolin, L.V.R. Beltrami, R.N. Brandalise, S.R. Kunst, Influence of the pretreatment and curing of alkoxysilanes on the protection of the titanium-aluminum-vanadium alloy, *J. Appl. Polym. Sci.* 134 (2017) 1–14. doi:10.1002/app.45470.
- [64] R.T. Sakai, F.M.L. Di Da Cruz, H.G. De Melo, A. V. Benedetti, C. V. Santilli, P.H. Suegama, Electrochemical study of TEOS, TEOS/MPTS, MPTS/MMA and TEOS/MPTS/MMA films on tin coated steel in 3.5% NaCl solution, *Prog. Org. Coatings*. 74 (2012) 288–301. doi:10.1016/j.porgcoat.2012.01.001.
- [65] D. Kregiel, Advances in biofilm control for food and beverage industry using organo-silane technology: A review, *Food Control*. 40 (2014) 32–040. doi:10.1016/j.foodcont.2013.11.014.
- [66] L.E. Amato, D.A. López, P.G. Galliano, S.M. Ceré, Electrochemical characterization of sol-gel hybrid coatings in cobalt-based alloys for orthopaedic implants, *Mater. Lett.* 59 (2005) 2026–2031. doi:10.1016/j.matlet.2005.02.010.
- [67] A. Zomorodian, F. Brusciotti, A. Fernandes, M.J. Carmezim, T. Moura e Silva, J.C.S. Fernandes, M.F. Montemor, Anti-corrosion performance of a new silane coating for corrosion protection of AZ31 magnesium alloy in Hank's solution, *Surf. Coatings Technol.* 206 (2012) 4368–4375. doi:10.1016/j.surfcoat.2012.04.061.
- [68] C.T. Oliveira, S.R. Kunst, G.A. Ludwig, V.H.V. Sarmiento, C. de F. Malfatti, J. Santana, Corrosion Resistance of Hybrid Films Applied on TiN Plate: Precursor Solution Acidified with Hydrochloric Acid, *Mater. Sci. Forum*. 775–776 (2014) 370–374. doi:10.4028/www.scientific.net/msf.775-776.370.
- [69] J. Ballarre, E. Jimenez-Pique, M. Anglada, S.A. Pellice, A.L. Cavalieri, Mechanical characterization of nano-reinforced silica based sol-gel hybrid coatings on AISI 316L stainless steel using nanoindentation techniques, *Surf. Coatings Technol.* 203 (2009) 3325–3331. doi:10.1016/j.surfcoat.2009.04.014.

- [70] J. Ballarre, I. Manjubala, W.H. Schreiner, J. Carlos, P. Fratzl, S. Ceré, Improving the osteointegration and bone – implant interface by incorporation of bioactive particles in sol – gel coatings of stainless steel implants, *Acta Biomater.* 6 (2010) 1601–1609.
doi:10.1016/j.actbio.2009.10.015.
- [71] P. Kushwaha, M.J. Wolfgang, R.C. Riddle, Fatty acid metabolism by the osteoblast, *Bone*. 115 (2017) 8–14. doi:10.1016/j.bone.2017.08.024.
- [72] Mundo terá 2 bilhões de idosos em 2050; OMS diz que ‘envelhecer bem deve ser prioridade global,’ *Organ. Das Nações Unidas No Bras.* (2014).
<https://nacoesunidas.org/mundo-tera-2-bilhoes-de-idosos-em-2050-oms-diz-que-envelhecer-bem-deve-ser-prioridade-global/> (accessed March 17, 2019).
- [73] American Society for Testing and Materials (ASTM), F136-12a Standard Specification for Wrought Titanium-6Aluminium-4Vanadium ELI (Extra Low Interstitial) Alloy for Sugical Implant Applications (UNS R56401), *ASTM Int.* (2012) 1–5. doi:10.1520/F0136-12A.2.
- [74] J.A. Santana, R.G.O. Araujo, F.A. De Jesus, K.S. Lima, G. Machado, M.C.P. Cruz, V.H.V. Sarmiento, Factorial design applied for evaluation of effect of interactions among precursors on the thermal decomposition temperature of montmorillonite/poly(Methyl methacrylate) nanocomposites, *J. Braz. Chem. Soc.* 29 (2018) 1–10.
doi:10.21577/0103-5053.20170201.
- [75] J. Li, X. Liu, Chemical surface modification of metallic biomaterials, in: *Surf. Coat. Modif. Met. Biomater.*, Woodhead Publishing, 2015: pp. 159–183. doi:10.1016/B978-1-78242-303-4.00005-3.
- [76] C.A. Schneider, W.S. Rasband, K.W. Eliceiri, NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis, *Nat. Methods*. 9 (2012) 671–675.
doi:10.1038/nmeth.2089.
- [77] T. Kokubo, H. Takadama, How useful is SBF in predicting in vivo bone bioactivity?, *Biomaterials*. 27 (2006) 2907–2915.
doi:10.1016/j.biomaterials.2006.01.017.

- [78] J. Tedim, A.C. Bastos, S. Kallip, M.L. Zheludkevich, M.G.S. Ferreira, Corrosion protection of AA2024-T3 by LDH conversion films. Analysis of SVET results, *Electrochim. Acta.* 210 (2016) 215–224. doi:10.1016/j.electacta.2016.05.134.
- [79] H.W.P. Carvalho, A.F. Suzana, C. V. Santilli, S.H. Pulcinelli, Synthesis, Structure, and Thermal Stability of Poly(methyl methacrylate)-co- Poly(3-tri(methoxysilyl)propyl methacrylate)/ Montmorillonite Nanocomposites, *Polym. Eng. Sci.* 104 (2013) 1253–1261. doi:10.1002/pen.23364.
- [80] Y. Shirosaki, K. Tsuru, S. Hayakawa, A. Osaka, M.A. Lopes, J.D. Santos, M.H. Fernandes, In vitro cytocompatibility of MG63 cells on chitosan-organosiloxane hybrid membranes, *Biomaterials.* 26 (2005) 485–493. doi:10.1016/j.biomaterials.2004.02.056.
- [81] T. Kashiwagi, T. Hirata, J.E. Brown, Thermal and Oxidative Degradation of Poly(methyl methacrylate): Weight Loss, *Macromolecules.* 18 (1985) 1410–1418. doi:10.1021/ma00144a003.
- [82] T. Kashiwagi, A.B. Morgan, J.M. Antonucci, M.R. VanLandingham, R.H. Harris, W.H. Awad, J.R. Shields, Thermal and flammability properties of a silica-poly(methylmethacrylate) nanocomposite, *J. Appl. Polym. Sci.* 89 (2003) 2072–2078. doi:10.1002/app.12307.
- [83] J.C.M. Souza, S.L. Barbosa, E.A. Ariza, M. Henriques, W. Teughels, P. Ponthiaux, J.P. Celis, L.A. Rocha, How do titanium and Ti6Al4V corrode in fluoridated medium as found in the oral cavity? An in vitro study, *Mater. Sci. Eng. C.* 47 (2015) 384–393. doi:10.1016/j.msec.2014.11.055.
- [84] S. Zheng, J. Li, Inorganic-organic sol gel hybrid coatings for corrosion protection of metals, *J. Sol-Gel Sci. Technol.* 54 (2010) 174–187. doi:10.1007/s10971-010-2173-1.
- [85] W.J. van Ooij, D. Zhu, M. Stacy, A. Seth, T. Mugada, J. Gandhi, P. Puomi, Corrosion Protection Properties of Organofunctional Silanes—An Overview, *Tsinghua Sci. Technol.* 10 (2005) 639–664. doi:10.1016/S1007-0214(05)70134-6.
- [86] H.W.P. Carvalho, C. V. Santilli, V. Briois, S.H. Pulcinelli, Polymer-clay

- nanocomposites thermal stability: Experimental evidence of the radical trapping effect, *RSC Adv.* 3 (2013) 22830–22833.
doi:10.1039/c3ra44388d.
- [87] B. Tylkowski, I. Tsibranska, Overview of main techniques used for membrane characterization, *J. Chem. Technol. Metall.* 50 (2015) 3–12.
- [88] R. de Oliveira Gama, R.E.S. Bretas, R.L. Oréfice, Control of the Hydrophilic/Hydrophobic Behavior of Biodegradable Natural Polymers by Decorating Surfaces with Nano- and Micro-Components, *Adv. Polym. Technol.* 37 (2018) 654–661. doi:10.1002/adv.21706.
- [89] S. Teng, P. Wang, J. Dong, Bioactive hybrid coatings of poly (ϵ - caprolactone) – silica xerogel on titanium for biomedical applications, *Mater. Lett.* 129 (2014) 209–212. doi:10.1016/j.matlet.2014.05.068.
- [90] J.J. Chung, B.S.T. Sum, S. Li, M.M. Stevens, T.K. Georgiou, J.R. Jones, Effect of Comonomers on Physical Properties and Cell Attachment to Silica-Methacrylate / Acrylate Hybrids for Bone Substitution, *Macromol. Journals.* 201700168 (2017) 1–5. doi:10.1002/marc.201700168.
- [91] S.R. Kunst, H.R.P. Cardoso, C.T. Oliveira, C.I. Da Silva Filho, V.H.V. Sarmento, T.L. Menezes, I.L. Müller, C. De Fraga Malfatti, Influence of tetraethoxysilane addition in siloxane-poly(methyl methacrylate) hybrid films applied on galvanized steel, *Int. J. Electrochem. Sci.* 8 (2013) 11984–12004.
- [92] S.L.M. Ribeiro Filho, C.H. Lauro, A.H.S. Bueno, L.C. Brandão, Influence cutting parameters on the surface quality and corrosion behavior of Ti-6Al-4V alloy in synthetic body environment (SBF) using Response Surface Method, *Meas. J. Int. Meas. Confed.* 88 (2016) 223–237. doi:10.1016/j.measurement.2016.03.047.
- [93] Z. Zhang, B. Ge, X. Men, Y. Li, Mechanically durable, superhydrophobic coatings prepared by dual-layer method for anti-corrosion and self-cleaning, *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.* 490 (2016) 182–188. doi:10.1016/j.colsurfa.2015.11.049.
- [94] T.P. Kunzler, T. Drobek, M. Schuler, N.D. Spencer, Systematic study of

- osteoblast and fibroblast response to roughness by means of surface-morphology gradients, *Biomaterials*. 28 (2007) 2175–2182.
doi:10.1016/j.biomaterials.2007.01.019.
- [95] S. Kumar, T.S.N. Sankara Narayanan, S. Saravana Kumar, Influence of fluoride ion on the electrochemical behaviour of β -Ti alloy for dental implant application, *Corros. Sci.* 52 (2010) 1721–1727.
doi:10.1016/j.corsci.2010.01.008.
- [96] F. El-Taib Heakal, A.A. Ghoneim, A.S. Mogoda, K. Awad, Electrochemical behaviour of Ti-6Al-4V alloy and Ti in azide and halide solutions, *Corros. Sci.* 53 (2011) 2728–2737. doi:10.1016/j.corsci.2011.05.003.
- [97] S.R. Kunst, L.V.R. Beltrami, R. Boniatti, M.C. Quevedo, A.C. Bastos, C.T. Oliveira, M. Ferreira, T.L. Menezes, C.F. Malfatti, Corrosion Mechanism Suggested Based on Electrochemical Analysis and SVET for Uncoated Tinplate and Post Coated With a Hybrid Film, *Mater. Res.* 20 (2017) 1735–1747. doi:10.1590/1980-5373-mr-2016-0623.
- [98] P.H. Suegama, V.H. V Sarmiento, M.F. Montemor, A. V Benedetti, H.G. De Melo, I. V Aoki, C. V Santilli, Effect of cerium (IV) ions on the anticorrosion properties of siloxane-poly (methyl methacrylate) based film applied on tin coated steel, *Electrochim. Acta.* 55 (2010) 5100–5109.
doi:10.1016/j.electacta.2010.04.002.
- [99] A. C., S.A.S. Dias, T.C. Diamantino, M.G.S. Ferreira, T Uma Introdução à Técnica SVET, *Corros. Prot. Mater.* 32 (2013) 50–57.
- [100] N. Murugan, C. Murugan, A.K. Sundramoorthy, In vitro and in vivo characterization of mineralized hydroxyapatite/polycaprolactone-graphene oxide based bioactive multifunctional coating on Ti alloy for bone implant applications, *Arab. J. Chem.* (2018). doi:10.1016/j.arabjc.2018.03.020.
- [101] A. Vallés Lluch, G. Gallego Ferrer, M. Monleón Pradas, Biomimetic apatite coating on P(EMA-co-HEA)/SiO₂ hybrid nanocomposites, *Polymer (Guildf)*. 50 (2009) 2874–2884. doi:10.1016/j.polymer.2009.04.022.
- [102] H.-M. Kim, F. Miyaji, T. Kokubo, T. Nakamura, Preparation of bioactive Ti and its alloys via simple chemical surface treatment Hyun-Min, *J. Biomed. Mater. Res.* 32 (1996) 409–

417.

- [103] P. Heintl, L. Müller, C. Körner, R.F. Singer, F.A. Müller, Cellular Ti-6Al-4V structures with interconnected macro porosity for bone implants fabricated by selective electron beam melting, *Acta Biomater.* 4 (2008) 1536–1544. doi:10.1016/j.actbio.2008.03.013.
- [104] A. Montenero, G. Gnappi, F. Ferrari, M. Cesari, E. Salvioli, Sol-gel derived hydroxyapatite coatings, 5 (2000) 2791–2797.
- [105] U. Anjaneyulu, U. Vijayalakshmi, Preparation and characterization of novel sol-gel derived hydroxyapatite/Fe₃O₄composites coatings on Ti-6Al-4V for biomedical applications, *Mater. Lett.* 189 (2017) 118–121. doi:10.1016/j.matlet.2016.11.078.